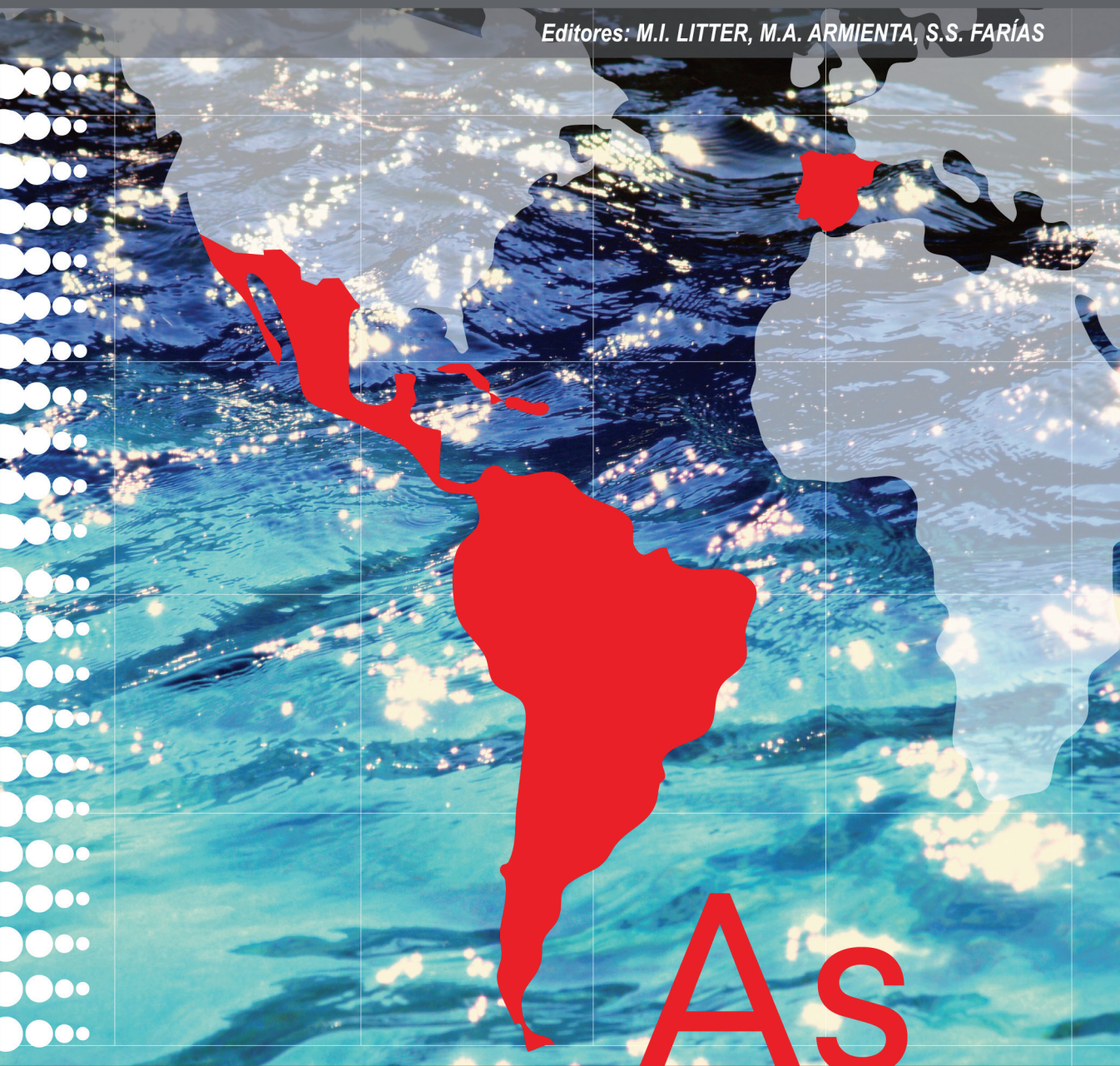




IBEROARSEN

METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN
Y ESPECIACIÓN DE ARSÉNICO EN AGUAS Y SUELOS

Editores: M.I. LITTER, M.A. ARMIENTA, S.S. FARIÁS



IBEROARSEN

Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos

M.I. Litter
M.A. Armienta
S.S. Farías

(editores)

Editado por CYTED

Se agradece a María E. Morgada la revisión de la presente edición.

Impreso en Argentina / Printed in Argentina
Octubre 2009
Editado por CYTED
ISBN: 978-84-96023-71-0

Contenido

Introducción: metodologías analíticas para determinación y especiación de arsénico	15
<i>Marta I. Litter, Silvia S. Farías, María Aurora Armienta</i>	
1. Formas arsenicales en agua y suelos	19
<i>Marta I. Litter y María Eugenia Morgada</i>	
1.1. INTRODUCCIÓN	19
1.2. FORMAS INORGÁNICAS	20
1.3. FORMAS ORGÁNICAS DE ARSÉNICO	23
1.4. CONCLUSIONES FINALES	27
2. Tratamiento de las muestras de agua, suelos y sedimentos para determinación de arsénico	29
<i>Julio C.J. Silva y Virginia S.T. Ciminelli</i>	
2.1. RECOLECCIÓN Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS DE AGUA PARA EL ANÁLISIS DE ARSÉNICO	29
2.1.1. Preparación de los frascos para la recolección	29
2.1.2. Muestreo de agua	30
2.1.3. Filtración y preservación de muestras de agua	30
2.1.4. Preservación de muestras para la determinación de arsénico total	31
2.1.4.1. Preservación de muestras para especiación de arsénico	31
2.1.4.2. Temperatura de almacenamiento	32
2.2. MUESTREO DE SUELOS Y SEDIMENTOS	32
2.2.1. Preparación física de suelos y sedimentos	34
2.3. DIGESTIÓN DE MUESTRAS DE AGUA Y SUELOS/SEDIMENTOS USANDO HORNO DE MICROONDAS	35
2.3.1. Instrumentación	35
2.3.2. Descontaminación del vaso de digestión	36
2.3.3. Reactivos	36
2.3.4. Calibración del horno del microondas	37
2.3.4.1. Digestión de muestras de agua usando horno de microondas	37

2.3.4.2. Digestión de muestras se suelos y sedimentos usando horno de microondas	38
2.4. CONCLUSIONES	39
3. Métodos espectrofotométricos UV-Vis	43
<i>Maria Luisa Castro de Esparza, Marta I. Litter, María Wong, Vilma Mori</i>	
3.1. CONSIDERACIONES GENERALES DE LA ESPECTROSCOPÍA	43
3.2. ESPECTROSCOPÍA ULTRAVIOLETA VISIBLE (UV-VIS)	44
3.2.1. Generalidades	44
3.2.2. Modos de excitación electrónica	45
3.3. LEY DE LAMBERT – BEER	48
3.4. APLICACIÓN DE LA ESPECTROMETRÍA UV-VIS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPECIES QUÍMICAS	49
3.4.1. El espectrofotómetro UV-Vis [2]	50
3.4.1.1. Partes básicas de un espectrofotómetro	50
3.4.1.2. Espectrofotómetro convencional	50
3.4.1.3. Espectrofotómetro de arreglo de diodos	51
3.5. MÉTODOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO EN SOLUCIÓN ACUOSA	52
3.6. FUNDAMENTO TEÓRICO DEL MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS EMPLEANDO EL DIETILDITIOCARBAMATO DE PLATA	53
3.6.1. Generalidades	53
3.6.2. Técnica analítica	53
3.6.2.1. Generalidades de la técnica analítica	53
3.6.2.2. Proceso de la técnica analítica	53
3.7. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMALIZADO PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO SOLUBLE EN AGUA MEDIANTE EL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTICO UV-VIS DEL DIETILDITIOCARBAMATO DE PLATA	54
3.7.1. Aplicación	54
3.7.2. Resumen del método	54
3.7.3. Precauciones de seguridad	55
3.7.4. Precauciones de operación	55
3.7.5. Interferencias	56
3.7.6. Instrumental/ materiales	56
3.7.7. Reactivos	56
3.7.8. Calibración del instrumento	57

3.7.9. Calibración del método	58
3.7.10. Muestreo y preservación	59
3.7.11. Análisis de datos	60
3.7.12. Registros	60
3.7.13. Límite de detección	60
3.7.14. Control de la exactitud	61
3.7.15. Control de la precisión	61
3.7.16. Adición estándar	61
3.7.17. Control de blancos	61
3.7.18. Estándares de verificación	62
3.7.19. Cartas de control	62
3.7.20. Incertidumbre	62
4. Determinación de arsénico por el método: absorción atómica-generación de hidruros-FIAS	65
<i>María Aurora Armienta, María L. Castro de Esparza, Clara M. López, Adriana E. Piñeiro, Adriana H. Sassone</i>	
4.1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	65
4.2. GENERACIÓN DE HIDRUROS	66
4.3. MINERALIZACIÓN	67
4.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON GENERACIÓN DE HIDRUROS Y SISTEMA DE INYECCIÓN EN FLUJO (FIAS)	67
4.5. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO SOLUBLE EN AGUA MEDIANTE EL MÉTODO DE GENERACIÓN DE HIDRUROS (FIAS) Y ABSORCIÓN ATÓMICA	68
4.5.1. Aplicación	68
4.5.2. Resumen del método	68
4.5.3. Precauciones de seguridad	68
4.5.4. Precauciones para la operación	69
4.5.5. Interferencias	70
4.5.6. Instrumental/materiales	70
4.5.7. Reactivos	71
4.5.8. Calibración del equipo	71
4.5.9. Calibración del método	72
4.5.10. Muestreo y preservación	73
4.5.11. Procedimiento de análisis	73
4.5.12. Análisis de datos	74
4.5.13. Registro	75

4.5.14. Límite de detección	76
4.5.15. Control de la exactitud	76
4.5.16. Control de la precisión	76
4.5.17. Adición de estándar	76
4.5.18. Control de blancos	77
4.5.19. Estándares de verificación	77
4.5.20. Cartas de control	77
4.5.21. Incertidumbre	77
5. Absorción atómica con horno de grafito	79
<i>Nelly Mañay, Giovanna Clavijo y Laura Díaz</i>	
5.1. GENERALIDADES: ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA	82
5.2. FUNDAMENTO TEÓRICO (GFAAS)	83
5.3. ATOMIZADORES ELECTROTÉRMICOS	83
5.4. GENERALIDADES DE LA METODOLOGÍA	83
5.5. CONTROL DE INTERFERENCIAS	83
5.5.1. Interferencias espectrales	84
5.5.1.1. Emisión interferente	84
5.5.1.2. Absorción de fondo	79
5.5.1.3. Métodos para corrección de las interferencias espectrales	80
5.5.1.4. Corrección de fondo realizada en forma automática por el instrumento	79
5.5.2. Interferencias no espectrales	85
5.5.2.1. Uso de adiciones estándar	86
5.5.2.2. Superficie del tubo de grafito	85
5.5.2.3. Plataforma L'vov	85
5.5.2.4. Máximo poder de atomización	85
5.6. COMPARACIÓN DE MÉTODOS: ATOMIZACIÓN POR LLAMA Y POR HORNO DE GRAFITO. VENTAJAS Y DESVENTAJAS	87
5.7. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO EN AGUA POR EL MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON HORNO DE GRAFITO	87
5.7.1. Aplicación	87
5.7.2. Resumen del método	87
5.7.3. Precauciones de seguridad	88
5.7.4. Precauciones técnicas	88
5.7.5. Interferencias	88
5.7.6. Instrumental/materiales	88
5.7.7. Reactivos	88

5.7.7.1. Tipos de reactivos	88
5.7.7.2. Almacenamiento de reactivos, soluciones y otros	89
5.7.8. Calibración del equipo	89
5.7.9. Calibración del método	89
5.7.10. Muestreo y preservación	89
5.7.11. Procedimiento de análisis	89
5.7.12. Procedimiento de análisis	91
5.7.13. Registros	92
5.7.14. Exactitud del método	92
5.7.15. Estudio de la repetibilidad	92
5.7.16. Adición de estándar o muestras fortificadas	92
5.7.17. Control de blancos	92
6. Espectroscopía de emisión – plasma inductivo de argón	93
<i>Silvia S. Farías</i>	
6.1. INTRODUCCIÓN	93
6.2. ANÁLISIS CUANTITATIVO	95
6.3. PLASMA INDUCTIVAMENTE ACOPLADO	96
6.4. INTERFERENCIAS	98
6.5. ESPECIFICACIONES DEL INSTRUMENTO	99
6.6. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO SOLUBLE EN AGUA MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE EMISIÓN ATÓMICA – PLASMA INDUCTIVO DE ARGÓN	100
6.6.1. Aplicación	100
6.6.2. Resumen del método	101
6.6.3. Precauciones de seguridad y técnicas	101
6.6.3.1. Precauciones de seguridad	101
6.6.3.2. Precauciones técnicas	101
6.6.4. Interferencias	102
6.6.5. Instrumental/materiales	102
6.6.6. Reactivos y soluciones	103
6.6.7. Calibración del método	104
6.6.8. Muestreo y preservación de las muestras	104
6.6.9. Procedimiento de análisis	105
6.6.10. Análisis de datos	106
6.6.10.1. Cálculos	106
6.6.10.2. Expresión de los resultados	106
6.6.10.3. Controles	106

6.6.11. Registros	107
6.6.12. Exactitud del método	107
6.6.13. Estudio de la repetibilidad	107
6.6.14. Adición de estándar o muestras fortificadas	108
6.6.15. Control de blancos	108
6.6.16. Límite de detección	108
6.6.17. Control de la exactitud	108
6.6.18. Control de la precisión	108
6.6.19. Adición de estándar	109
6.6.20. Control de blancos	109
6.6.21. Estándares de verificación	109
6.6.22. Cartas de control	109
6.6.23. Incertidumbre	109
6.6.23.1. General	109
6.6.23.2. Cálculo de la concentración	110
6.6.23.3. Informe de la concentración	110
6.6.24. Abreviaturas y definiciones	110
6.6.24.1. Abreviaturas	110
6.6.24.2. Definiciones	110
6.6.25. Condiciones de operación del equipo Perkin Elmer Optima 3100 XL	111
7. Espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado	113
<i>Haydn Barros, María Luisa Castro de Esparza, María Wong, Vilma Mori</i>	
7.1. INTRODUCCIÓN	113
7.2. SISTEMA DE INTRODUCCIÓN DE MUESTRAS	114
7.3. GENERACIÓN DE IONES: PLASMA INDUCTIVAMENTE ACOPLADO	115
7.4. INTERFASE DE ACONDICIONAMIENTO DEL HAZ DE IONES	116
7.5. DISCRIMINACIÓN DE IONES	117
7.6. SISTEMA DE DETECCIÓN	118
7.7. PARÁMETROS Y CONDICIONES DE MEDIDA	119
7.8. TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS Y PROCEDIMIENTO DE MEDIDA PARA MUESTRAS ACUOSAS.	120
7.9. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO SOLUBLE EN AGUA MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE PLASMA INDUCTIVAMENTE ACOPLADO CON DETECTOR DE MASAS (ICP-MS)	125
7.9.1. Aplicación	125
7.9.2. Resumen del método	125

7.9.3. Precauciones de seguridad	125
7.9.4. Precauciones para la operación	126
7.9.5. Interferencias	127
7.9.6. Instrumental/materiales	128
7.9.7. Reactivos	128
7.9.8. Muestreo y preservación	128
7.9.9. Calibración del método	129
7.9.10. Uso del instrumento	129
7.9.11. Sintonización del equipo	132
7.9.12. Procedimiento de análisis	135
7.9.14. Análisis de datos	135
7.9.15. Límite de detección	136
7.9.16. Control de la exactitud	136
7.9.17. Control de la precisión	137
7.9.18. Adición de estándar	137
7.9.19. Control de blancos	137
7.9.20. Estándares de verificación	137
7.9.21. Cartas de control	137
8. Especiación de arsénico mediante técnicas acopladas	139
<i>Silvia S. Farías</i>	
8.1. INTRODUCCIÓN	139
8.2. METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA ANÁLISIS DE ESPECIACIÓN DE ARSÉNICO	140
8.3. TÉCNICAS ACOPLADAS (“HYPHENATED TECHNIQUES”) PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO	141
8.3.1. Generalidades	141
8.3.2. Muestreo para análisis de especiación	141
8.3.3. Procesamiento y almacenamiento de muestras para análisis de especiación	143
8.3.4. Técnicas de preparación de muestras para estudios de especiación elemental	144
8.3.5. Métodos separativos	146
8.3.5.1. Cromatografía líquida	139
8.3.5.2. Cromatografía gaseosa	139
8.3.6. Detectores específicos	149
8.3.6.1. Espectrometría de absorción atómica, espectrometría de fluorescencia atómica y espectrometría de emisión con fuente de plasma inductivo	149
8.3.6.2. Plasma inductivo con detección de masas	151

9. Espectrometría de fluorescencia de rayos X de energía dispersiva	155
<i>Lorena Cornejo y Jorge Acarapi</i>	
9.1. INTRODUCCIÓN	155
9.2. EMISIÓN DE RAYOS X	155
9.3. FLUORESCENCIA DE RAYOS X	157
9.4. SISTEMAS DE DETECCIÓN	159
9.5. ANÁLISIS CUANTITATIVO: PRINCIPIOS Y MÉTODOS DE ANÁLISIS EN FLUORESCENCIA DE RAYOS X	159
9.5.1. Efectos de absorción y refuerzo	159
9.5.2. Métodos de análisis sin tener en cuenta el efecto de matriz	159
9.5.3. Otros métodos para minimizar efectos de matriz en los análisis por FRX	160
9.6. TIPOS DE MUESTRAS Y SU TRATAMIENTO PARA ANÁLISIS POR FLUORESCENCIA DE RAYOS X	160
9.6.1. Análisis de elementos mayoritarios en suelos y minerales	160
9.6.2. Análisis de elementos trazas en suelos y minerales	161
9.6.3. Análisis de vegetales	161
9.6.4. Análisis de aguas naturales, líquidos y soluciones	162
9.7. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO TOTAL EN AGUAS NATURALES MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X DE ENERGÍA DISPERSIVA	163
9.7.1. Aplicación	163
9.7.2. Resumen del método	163
9.7.3. Precauciones de seguridad	164
9.7.4. Precauciones técnicas	164
9.7.5. Interferencias	165
9.7.6. Instrumental/materiales	165
9.7.7. Reactivos	165
9.7.8. Calibración del equipo	166
9.7.9. Calibración del método	167
9.7.10. Preparación de la muestra.	168
9.7.11. Análisis de datos	168
9.7.12. Límite de detección	168
9.7.13. Control de la exactitud	169
9.7.14. Control de la precisión	169
9.7.15. Adición de estándar	169
9.7.16. Control de blancos	169
9.7.17. Estándares de verificación	170
9.7.18. Cartas de control	170

9.7.19. Incertidumbre	170
9.8. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO TOTAL EN SUELOS MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X DE ENERGÍA DISPERSIVA	170
9.8.1. Aplicación	171
9.8.2. Resumen del método	171
9.8.3. Precauciones de seguridad	171
9.8.4. Precauciones técnicas	171
9.8.5. Lavado del material de trabajo	172
9.8.6. Interferencias	172
9.8.7. Instrumental/materiales	172
9.8.8. Reactivos	173
9.8.9. Calibración del equipo	173
9.8.10. Calibración del método	174
9.8.11. Preparación de la muestra	175
9.8.12. Análisis de datos	176
9.8.13. Límite de detección	176
9.9. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO TOTAL EN VEGETALES MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X DE ENERGIA DISPERSIVASECCION	177
9.9.1. Aplicación	177
9.9.2. Resumen del método	177
9.9.3. Precauciones de seguridad	177
9.9.4. Precauciones técnicas	177
9.9.5. Lavado del material de trabajo	178
9.9.6. Interferencias	178
9.9.7. Instrumental/materiales	179
9.9.8. Reactivos	179
9.9.9. Calibración del equipo	180
9.9.10. Calibración del método	180
9.9.11. Preparación de la muestra	182
9.9.12. Análisis de datos	182
9.9.13. Límite de detección	182
10. Técnicas electroquímicas para la determinación y especiación de arsénico en aguas	185
<i>Maria Adelaide Alves Ferreira</i>	
10.1. TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS	185

10.1.1. Polarografía Normal (NP)	185
10.1.2. Voltametría normal de impulsos (NPV)	186
10.1.3. Voltametría Diferencial de Impulsos (DPV)	187
10.1.4. Voltametría de onda cuadrada (SWV)	187
10.2. ANÁLISIS VOLTAMÉTRICO CON PRECONCENTRACIÓN	188
10.3. COMPARACIÓN DE LÍMITES DE DETECCIÓN PARA DISTINTOS MÉTODOS INSTRUMENTALES EN LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO	189
10.4. ESPECIACIÓN DE ARSÉNICO INORGÁNICO EN AGUAS NATURALES POR SW-CSV CON EL ELECTRODO HMDE	189
10.5. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA ESPECIACIÓN DE ARSÉNICO POR EL MÉTODO VOLTAMETRÍA DE REDISOLUCIÓN CATÓDICA CON ONDA CUADRADA (SW-CSV) CON ELECTRODO DE MERCURIO DE GOTA SUSPENDIDA	191
10.5.1. Aplicación	191
10.5.2. Resumen del método	191
10.5.3. Precauciones de seguridad	194
10.5.4. Precauciones técnicas con las soluciones	194
10.5.5. Buenas prácticas empleadas en la técnica analítica	195
10.5.6. Limpieza del material de trabajo	195
10.5.7. Interferencias	195
10.5.8. Instrumental / materiales	196
10.5.9. Reactivos	196
10.5.10. Verificación del equipo	198
10.5.11. Calibración del método	199
10.5.12. Muestreo y preservación	201
10.5.13. Procedimiento de análisis del As(III)	201
10.5.14. Lectura de las muestras de As(III) por el método de la adición sucesiva de estándar	202
10.5.15. Procedimiento de análisis del As _{total}	203
10.5.16. Análisis de datos	204
10.5.17. Registro	204
10.5.18. Límite de detección y de cuantificación	205
10.5.19. Control de la exactitud	206
10.5.20. Control de la precisión	207
10.5.21. Ensayos de recuperación	207
10.5.22. Control de blancos	208
10.5.23. Estándares de verificación	208
10.5.24. Incertidumbre del método	208
10.5.25. Reporte de resultados	209

11. Especiación de arsénico en muestras acuosas y sólidas por análisis de difracción de rayos X, espectroscopía infrarroja y Raman, espectroscopía de absorción de rayos X y extracción secuencial	211
<i>Virginia S.T. Ciminelli, Cláudia L. Caldeira, Gabriela Cordeiro Silva, Regina Pinto de Carvalho, Katharina Müller, Maria Sylvia Silva Dantas, Grazielle Duarte, Mônica Cristina Teixeira y Fernando L. Pantuzzo</i>	
11.1. INTRODUCCIÓN	211
11.2. TÉCNICAS DE ANÁLISIS	212
11.2.1. Difracción de Rayos X	212
11.2.2. Espectroscopía infrarroja (IR)	212
11.2.3. Espectroscopía Raman	213
11.2.4. Espectroscopía de absorción de rayos X	214
11.3. ESTUDIOS DE CASOS	216
11.3.1. Identificación de arsénico en muestras de relave de la minería del oro	218
11.3.1.1. Relaves de minería del oro provenientes del circuito de tostación-lixivación	219
11.3.1.2. Extracción secuencial	216
11.3.2. Identificación de arsénico adsorbido en muestras de óxidos e hidróxidos de hierro de baja cristalinidad	223
11.3.3. Determinación de la especiación de arsénico en medio acuoso utilizando micro-columnas de extracción en fase sólida	225
Índice I: Autores	229
Índice II: Palabras claves	233

Prefacio

Introducción: metodologías analíticas para determinación y especiación de arsénico

MARTA I. LITTER, SILVIA S. FARIAS, MARÍA AURORA ARMIENTA

Como se ha dicho en el primer libro de esta serie [1], la presencia de arsénico en aguas de consumo ha ocasionado la diseminación del hidroarsenicismo crónico regional endémico (HACRE), enfermedad crónica que se manifiesta principalmente por alteraciones dermatológicas como melanodermia, leucodermia y/o queratosis palmo-plantar, evolucionando hacia patologías más graves como distintos tipos de cáncer.

Las poblaciones más afectadas por el HACRE habitan, por lo general, en países con bajos niveles de ingreso. En América Latina, se estima que la población en riesgo supera los 14 millones de personas, con elevada incidencia en casi todos los países de la región [1]. La problemática también está teniendo relevancia en España y en el norte y centro de Portugal.

La presencia de altos niveles de arsénico en el agua es un tema prioritario de preocupación ambiental, que limita el uso del recurso para agua potable y otros propósitos, e impide el crecimiento socioeconómico, la sostenibilidad del uso racional de los suelos y el desarrollo sostenible de la agricultura. Por lo tanto, para mejorar el estatus socioeconómico y no comprometerlo a futuro en las regiones afectadas, se necesitan datos para mejorar la comprensión de la distribución geográfica y de la génesis geológica del As en acuíferos, sedimentos y suelos, en los factores que influyen en su movilidad en el agua subterránea, su permeación a suelos, y su absorción por las plantas. Se necesitan también metodologías de determinación de As en matrices acuosas a nivel de trazas, compatibles con los límites impuestos por la legislación para el contenido de As en agua potable, que en la mayoría de los países se ha fijado recientemente en $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Por otra parte, la mayor proporción de la población afectada por la presencia de As en agua de bebida y alimentos habita en regiones rurales o en núcleos de población rural o urbana dispersa, no conectada a redes de agua potable, y en condiciones socioeconómicas que impiden la instalación de grandes plantas de tratamiento. Por ello, es fundamental el desarrollo y puesta a punto de tecnologías económicas de abatimiento de As que sean eficientes y económicas.

En el marco de las tres temáticas enunciadas, la distribución del As, la búsqueda de metodologías de análisis a nivel de trazas y la implementación de tecnologías económicas de remoción, la Red IBEROARSEN, actualmente integrada por 46 grupos de investigación representantes de 17 países Iberoamericanos, ha llevado una acción continuada desde 2006. Entre las actividades desarrolladas se cuentan:

- La construcción y actualización periódica de una base de datos y de un mapa completo de distribución geográfica y geológica del arsénico en aguas y suelos de la

Península Ibérica e Iberoamérica, incluyendo la identificación de acuíferos “libres” de arsénico para el abastecimiento de agua potable.

- La promoción de la formación de recursos humanos en metodologías analíticas de determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos.
- La comunicación y avances en innovación y desarrollo de tecnologías económicas de abatimiento de arsénico en aguas.

En 2008 se ha presentado la primera contribución de IBEROARSEN, destinada a difundir avances y conocimientos en “*Distribución geográfica y geológica del As en la Península Ibérica y en Iberoamérica*” [1]. En el presente volumen, se tratan los aspectos referidos a las “*Metodologías analíticas para la determinación de arsénico en aguas y suelos*”.

La necesidad del análisis y especiación de arsénico es crucial para conocer de manera certera los niveles de arsénico que pueden afectar aguas, suelos y sedimentos, así como las cantidades presentes en alimentos a ser ingeridos o en organismos vegetales y animales, especialmente en todo lo relacionado con seres humanos. También es imprescindible para poder desarrollar tecnologías de remoción de alta calidad para mitigar los problemas del arsénico ya comentados más arriba.

A continuación ofrecemos un breve resumen de las metodologías existentes, de distinta complejidad y niveles de detección variables. Algunas de ellas han sido descritas con detalle en este libro y se indica el capítulo correspondiente. La mayoría de los capítulos cuenta también con un procedimiento normalizado de operación que facilita la aplicación de la metodología en cada caso.

- **Métodos espectrofotométricos UV-Vis:** metodologías simples y económicas, basadas en reacciones colorimétricas que involucran selectivamente As(III) o As(V) (Capítulo 3).
- **Absorción atómica-generación de hidruros (AAS-HG):** metodología sencilla que requiere instrumentación relativamente económica y muy versátil, con excelente poder de detección para arsénico total e inorgánico (para este último se requiere separación previa) (Capítulo 4).
- **Absorción atómica con horno de grafito (AAS-GF):** similar al anterior con límites de detección algo mayores, dependiendo de la matriz analizada, que requiere de analistas altamente entrenados (Capítulo 5).
- **Espectroscopía de emisión-plasma inductivo de argón (ICP-OES):** técnica que requiere equipamiento costoso y analistas entrenados, pero con muy buenos límites de detección y amplio ámbito lineal dinámico, lo que permite analizar rangos de concentración variables de arsénico (Capítulo 6).
- **Espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (ICP-MS):** técnica robusta y sensible; es muy conveniente para aguas. Requiere equipamiento muy costoso, instalaciones especiales y una larga y compleja capacitación de los analistas. Provee excelentes límites de detección (Capítulo 7).
- **Florescencia atómica-generación de hidruros (AFS-HG):** técnica semejante a la absorción atómica con generación de hidruros, que provee mejores límites de detección, pero que necesita de mayores volúmenes de muestra para cada ensayo (Capítulo 8).
- **Técnicas acopladas:** El acoplamiento de técnicas separativas, entre ellas la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), asociadas a sistemas de detección específicos, como los mencionados en el párrafo anterior, hacen posible la determinación de especies arsenicales tanto orgánicas como inorgánicas, haciendo posibles los estudios de especiación. A continuación se describen las técnicas acopladas comúnmente utilizadas para la determinación de especies arsenicales orgánicas e inorgánicas:

- **Cromatografía líquida de alta resolución asociada a espectroscopía de emisión mediante plasma inductivo de argón (HPLC-HG-ICP-OES):** a través de esta técnica es posible la evaluación de especies arsenicales, pero los límites de detección son sólo compatibles con altos niveles del/de los analito/s a determinar.
- **Cromatografía líquida de alta resolución asociada a generación de hidruros-espectroscopía de emisión mediante plasma inductivo de argón (HPLC-HG-ICP- OES):** asociando estas técnicas a la generación de hidruros se obtienen niveles de detección menores, llegando a incrementarse las señales hasta en dos órdenes de magnitud.
- **Cromatografía gaseosa acoplada a generación de hidruros-espectroscopía de absorción atómica (HG-GC-AAS) y Cromatografía gaseosa-trampa fría-acoplada a espectroscopía de absorción atómica (HG-CT-GC-AAS):** técnicas económicas, con alto poder de detección y aplicables a la determinación de especies arsenicales orgánicas e inorgánicas a niveles de ultratrazas, utilizadas por laboratorios de investigación y aún no disponibles comercialmente.
- **Cromatografía líquida de alta resolución asociada a generación de hidruros-espectroscopía de fluorescencia atómica (HPLC-HG-AFS):** técnica con límites de detección excelentes, adecuada para determinación de especies arsenicales a niveles de ultratrazas, versátil y de costo de operación razonable (Capítulo 8).
- **Cromatografía líquida de alta resolución asociada a generación de hidruros-espectroscopía de absorción atómica (HPLC-HG-AAS):** la técnica más difundida para estudios de especiación por su simplicidad, bajo costo, facilidad de operación y límites de detección adecuados para determinación a niveles de trazas.
- **Cromatografía líquida de alta resolución-plasma inductivamente acoplado-espectrometría de masas (HPLC-ICP-MS):** técnica ampliamente utilizada para la determinación de especies arsenicales inorgánicas y orgánicas a nivel de ultratrazas en matrices acuosas, ambientales, alimentarias y biológicas. Su costo es muy elevado.
- **Cromatografía líquida de alta resolución asociada a generación de hidruros-plasma inductivamente acoplado-espectrometría de masas (HPLC-HG-ICP-MS):** provee las ventajas del HPLC-ICP-MS con mejores límites de detección debido a la generación de compuestos volátiles. La separación y detección son excelentes para especies arsenicales volátiles.
- **Cromatografía líquida de alta resolución asociada a plasma inductivamente acoplado-espectrometría de masas con “electrospray” (HPLC-ES-MS) y Cromatografía líquida de alta resolución asociada a plasma inductivamente acoplado-detección por doble masa con “electrospray” (HPLC-ES-MS-MS):** se usan crecientemente para confirmar la identificación de las especies y proveer información estructural sobre nuevos compuestos. La cuantificación es difícil, y es imprescindible contar con analistas altamente entrenados.
- **Técnicas electroquímicas:** usan equipamiento económico y sencillo con límites de detección adecuados (Capítulo 10).
- **Métodos de espectroscopía con rayos X:** se usan para registrar *in situ* datos primarios sobre el entorno químico del átomo de As (Capítulo 11).

El presente volumen contiene además una breve reseña de las formas arsenicales más comunes en agua y suelos (Capítulo 1), y una detallada descripción sobre el tratamiento de las muestras antes de su análisis (Capítulo 2).

REFERENCIA

1. J. Bundschuh, A. Pérez Carrera, M.I. Litter (eds): *Distribución del arsénico en la región Ibérica e Iberoamericana*, CYTED, Buenos Aires, Argentina, 2008.

Capítulo 1

Formas arsenicales en agua y suelos

MARTA LITTER Y MARÍA EUGENIA MORGADA

1.1. INTRODUCCIÓN

En el primer volumen de esta serie [1], se ha hecho una discusión completa de la química del arsénico y su distribución en la Tierra. En este capítulo haremos solamente un breve resumen, poniendo el énfasis en las formas químicas presentes en agua y suelos, en relación con su evaluación por las metodologías analíticas que se describirán en el resto del libro.

El arsénico (As, número atómico 33, peso atómico 74,922) es un elemento ampliamente distribuido en la atmósfera, en la hidrosfera y en la biosfera ($\sim 5 \times 10^{-4}\%$ de la corteza terrestre). Si bien una gran cantidad del As en el medio ambiente proviene de fuentes naturales (meteorización, actividad biológica, emisiones volcánicas), existe una importante contribución a partir de actividades antropogénicas, tales como procesos industriales (minería, fundición de metales, pesticidas, conservantes de la madera, etc.).

El elemento puede estar presente en distintos estados de oxidación (-III, 0, III, V) y en formas inorgánicas y orgánicas, en un amplio rango de concentraciones en aire, agua, suelos, vegetales y animales. Las especies químicas más importantes son:

- Arseniato y otras formas inorgánicas de As(V)
- Arsenito y otras formas inorgánicas de As(III)
- Formas metiladas de As(V) como el ácido dimetilarsínico (DMA(V), el monometilarsonato (MMA(V)) y otras formas orgánicas de As(V).
- Formas metiladas de As(III) como el ácido dimetilarsenioso (DMA(III)) y otras formas orgánicas de As(III)
- Óxido de trimetilarsina (TMAO(V))
- Arsenobetaína (AB)
- Arsenocolina (AC)
- Cation tetrametilarsonio (TMA⁺)
- Arsenozúcares
- Arsenolípidos
- Otras especies

Las formas fisicoquímicas individuales pueden incluir material particulado y formas disueltas como especies inorgánicas simples, complejos orgánicos o el elemento adsorbido en partículas coloidales. La especiación del arsénico en materiales ambientales es de interés debido a los diferentes niveles de toxicidad exhibidos por las distintas especies. Con relación a este aspecto, el arsenito es la forma inorgánica más tóxica, 10 veces más que el arseniato. La toxicidad de especies metiladas de As(III) y As(V) es variada y se menciona más adelante. AB y AC son virtualmente no tóxicas [2].

Los niveles de As en el ambiente son variables, ya que es un elemento con muy alta movilidad y capacidad de transformación, pudiendo sorberse o desorberse de partículas, cambiar de estado de oxidación al reaccionar con oxígeno u otras moléculas del aire, del agua o del suelo o por acción de microorganismos [3, 4]. La presencia de elevados niveles de As en agua está directamente relacionada con su liberación desde la fase sólida, con fenómenos de transporte y de transferencia a otros medios y a procesos de dilución por mezcla [3].

Como después veremos, las formas orgánicas de As suelen aparecer en concentraciones menores que las inorgánicas, aunque pueden incrementar su proporción como resultado de reacciones de metilación producidas por actividad microbiana [5].

1.2. FORMAS INORGÁNICAS

En aguas naturales, el As se encuentra en general como especie disuelta, formando oxianiones. Los estados de oxidación que predominan son As(III) y As(V) y, con menos frecuencia, As(0) y As(-III). El arseniato [As(V)], la especie arsenical más difundida en el medio ambiente, es la mayoritaria en agua y suelos. El arsenito [As(III)] es la forma inorgánica reducida y está presente en forma minoritaria en aguas, suelos y seres vivos.

Con respecto a las formas químicas, el As(V) puede encontrarse como H_3AsO_4 y sus correspondientes productos de disociación ($H_2AsO_4^-$, $HAsO_4^{2-}$ y AsO_4^{3-} ; pK_{a1} : 2,3; pK_{a2} : 6,8 y pK_{a3} : 11,6), mientras que el As(III) se presenta como H_3AsO_3 y sus correspondientes derivados protolíticos dependiendo del pH ($H_4AsO_3^+$, $H_2AsO_3^-$, $HAsO_3^{2-}$ y AsO_3^{3-} ; pK_{a1} : 9,2; pK_{a2} : 12,7) [3, 6, 7].

El estado de oxidación del As y, por lo tanto, su movilidad, están controlados fundamentalmente por las condiciones redox (potencial redox, Eh) y el pH (Figura 1.1). Tanto el As(V) como el As(III) son móviles en el medio, aunque este último es el estado más móvil y de mayor toxicidad.

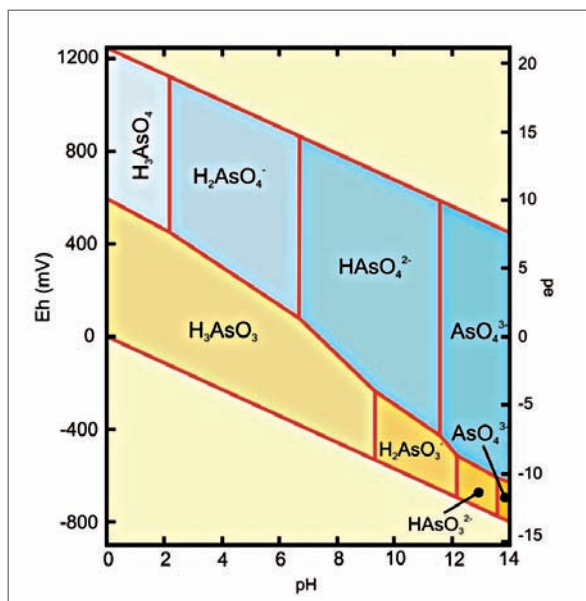


Figura 1.1. Diagrama Eh-pH de especies acuosas de arsénico en el sistema As-O₂-H₂O.

El As es un elemento particular entre los elementos traza por su sensibilidad a movilizarse en los valores de pH típicos de las aguas subterráneas (pH 6,5–8,5). En términos generales, bajo condiciones oxidantes (aeróbicas), el estado As(V) predomina sobre el As(III). El ácido arsénico sólo predomina a pH extremadamente bajos (< 2), situación poco común en aguas naturales. Se encuentra fundamentalmente como H_2AsO_4^- a valores de pH menores que 6,9, mientras que, a pH más alto, la especie dominante es HAsO_4^{2-} . En condiciones de extrema basicidad, la especie dominante será AsO_4^{3-} . El ácido arsenioso aparece a bajo pH y condiciones reducidas suaves, pero se transforma en H_2AsO_3^- a medida que aumenta el pH. En condiciones reductoras, a pH inferior a 9,2, predominará la especie neutra [8, 9]. Sólo cuando el pH excede 12 puede estar presente la especie HAsO_3^{2-} , por lo cual no se encontrará esta especie en aguas naturales.

En las Figuras 1.2 y 1.3 se muestra la especiación de As(III) y As(V) en función del pH.

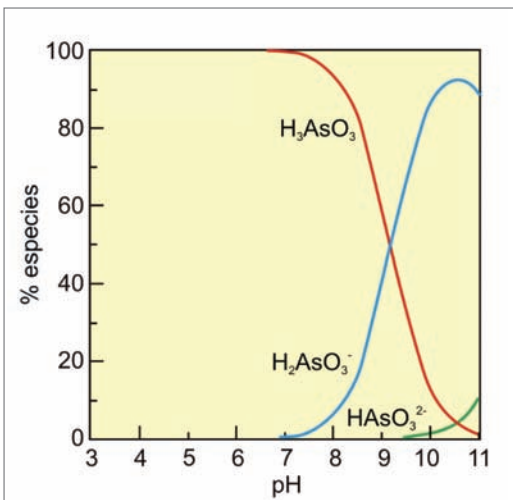


Figura 1.2. Especies de As(III) en función del pH.

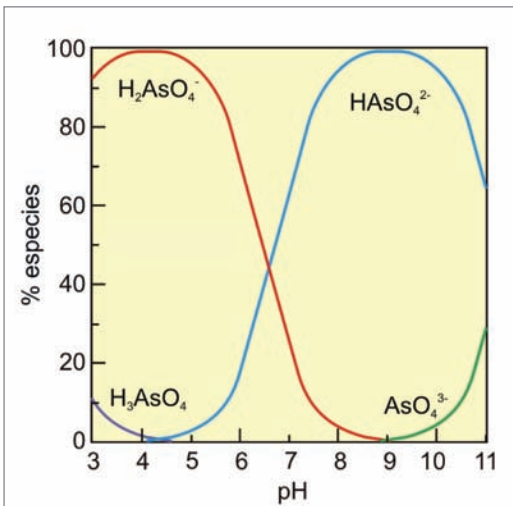


Figura 1.3. Especies de As(V) en función del pH.

Dado que forma aniones en solución pero es un metaloide, el As no forma generalmente complejos con aniones simples como Cl⁻ y SO₄²⁻ como sí lo hacen los metales catiónicos. Por otra parte, el arsénico forma uniones con azufre, nitrógeno y carbono orgánico.

El As(III) puede provenir de la reducción biológica del As(V), y predomina en zonas cercanas a industrias con efluentes ricos en As(III), aguas geotermales y ambientes reductores. En general, en aguas superficiales, el As(V) predomina sobre el As(III). En aguas subterráneas pueden encontrarse ambos estados de oxidación ya que las concentraciones de As(III) y As(V) dependen de la entrada de As al sistema, de las condiciones redox y de la actividad biológica. En aguas marinas, la especie predominante es el As inorgánico pentavalente, que puede ser transformado a formas orgánicas o reducido biológicamente a As(III) [10].

A bajo pH, en presencia de sulfuro, se puede formar HAsS₂; a bajos valores de pE, en aguas con concentraciones de azufre grandes o moderadas, son estables los sulfuros As₂S₃ y AsS. La arsina y los derivados de arsina y el arsénico cerovalente pueden formarse bajo condiciones extremadamente reductoras [2].

La exacta especiación del As inorgánico soluble, es decir, como formas no disociadas de oxianiones de los ácidos H₃AsO₃ y H₃AsO₄, depende del Eh y pH prevalente. La sorción de As, especialmente el pentavalente, sobre hidróxido férrico producido bajo condiciones oxidantes puede, sin embargo, restringir su movilidad y disponibilidad. El As(III), especialmente como H₃AsO₃, la forma predominante bajo condiciones reductoras a pH < 9, 2, es mucho menos fuertemente adsorbido.

El principal origen del As en el suelo es el material parental del cual deriva [6]; sin embargo, la utilización de compuestos de As inorgánico como pesticidas y herbicidas en la agricultura, especialmente durante el siglo XX, ha contribuido, junto con otras actividades antrópicas como la minería, a la dispersión de este contaminante en el medio ambiente.

El contenido de As en suelos es, por lo general, entre 5 y 10 mg kg⁻¹ [3, 6] y es constituyente principal de más de 200 minerales (As nativo, arseniuros, sulfuros, óxidos, arseniatos y arsenitos) cuyas formas más frecuentes se presentan en la Tabla 2.1. Las mayores concentraciones aparecen en sulfuros como pirita, calcopirita, galena y marcasita, donde sustituye al azufre en la estructura; el contenido de As puede en estos minerales superar el 10% en peso [11].

La pirita es el sulfuro más frecuente en la naturaleza, ya que, además de formarse en ambientes hidrotermales, también se forma en medios sedimentarios bajo condiciones reductoras. Otros minerales donde puede encontrarse As son los óxidos y oxihidróxidos de hierro y, en menor proporción, los de manganeso y aluminio, donde el As puede estar formando parte de la estructura o adsorbido en su superficie. Los fosfatos son otro grupo de minerales que pueden tener contenidos relativamente altos de As (p. ej., apatita). El As puede sustituir al Si(IV), Al(III), Fe(III) y Ti(IV) en muchas estructuras minerales, encontrándose de esta manera en numerosos minerales formadores de rocas, aunque en concentraciones muy bajas.

Tabla 1.1. Minerales de arsénico más frecuentes en suelos (adaptado de [7]).

Mineral	Composición	Ocurrencia
Arsénico nativo	As	Venas hidrotermales
Niccolita	NiAs	Filonos y noritas
Realgar	AsS	Generalmente asociado con oropimente, arcillas y carbonatos
Oropimente	As ₂ S ₃	Venas hidrotermales y producto de sublimación de emanaciones volcánicas
Cobaltita	CoAsS	Depósitos de rocas metamórficas
Arsenopirita	FeAsS	Mineral de As más abundante
Tennantita	(Cu,Fe) ₁₂ As ₄ S ₁₃	Venas hidrotermales
Enargita	Cu ₃ AsS ₄	Venas hidrotermales
Arsenolita	As ₂ O ₃	Mineral secundario formado por oxidación de arsenopirita, As nativo y otros minerales de As
Claudetita	As ₂ O ₃	Mineral secundario formado por oxidación de realgar, arsenopirita, y otros minerales de As
Escorodita	FeAsO ₄ ·2H ₂ O	Mineral secundario
Annabergita	(Ni,Co) ₃ (AsO ₄) ₂ ·8H ₂ O	Mineral secundario
Hoernesita	Mg ₃ (AsO ₄) ₂ ·8H ₂ O	Mineral secundario
Hematolita	(Mn,Mg) ₄ Al(AsO ₄)(OH) ₈	Mineral en fisuras de rocas metamórficas
Conicalcita	CaCu(AsO ₄)(OH)	Mineral secundario
Farmacosiderita	Fe ₃ (AsO ₄) ₂ (OH) ₃ ·5H ₂ O	Producto de oxidación de arsenopirita y otros minerales de As

1.3. FORMAS ORGÁNICAS DE ARSÉNICO

Los compuestos orgánicos arsenicales contienen arsénico unido a un átomo de carbono por medio de uniones covalentes; el arsénico puede estar tanto en su forma trivalente como pentavalente. Estas especies están ampliamente distribuidas en la atmósfera, en sistemas acuáticos, suelos, sedimentos y tejidos biológicos. Además, un número elevado de alquil- y arilderivados son sintetizados para uso comercial como biocidas en agricultura. Sin embargo, salvo por descargas localizadas, la cantidad de los compuestos antropogénicos es pequeña. De mayor relevancia son los compuestos orgánicos producidos dentro del ciclo biogeoquímico.

Las reacciones de metilación mediadas biológicamente que ocurren en organismos terrestres y marinos convierten el arsenito y arseniato inorgánico en compuestos metilados de toxicidad moderada como el monometilarsonato [MMA(V)] o ácido monometilarsónico [MMAA, CH₃AsO(OH)₂], el dimetilarseniato [DMA(V)] o ácido dimetilarsínico [DAMA, (CH₃)₂AsO(OH)] [5], el óxido de trimetilarsina (TMAO) y el ion tetrametilarsonio (TMA⁺). Estos compuestos son precursores de formas orgánicas más complejas y prácticamente no tóxicas, los arsenolípidos, como la arsenobetaína (AB) y la arsenocolina (AC) [12], y los arsenoazúcares (AsAz) [13].

En la Tabla 2.2 se resumen los principales compuestos orgánicos arsenicales detectados y algunas de sus características.

Tabla 2.2. Distribución y propiedades de compuestos arsenicales orgánicos de importancia ambiental [14].

Compuesto	Reactividad		Comentarios
	$^{\circ}\text{O}_2$	$^{\circ}\text{H}_2\text{O}$	
$(\text{CH}_3)_4\text{As}^+$	no	no	Ion tetrametilarsonio (TMA^+), hallado en tejidos, probablemente más ampliamente distribuido
$(\text{CH}_3)_3\text{AsO}$	no	no	Óxido de trimetilarsina (TMAO), detección limitada debido a la fácil reducción a $(\text{CH}_3)_3\text{As}$; reacciona con H_2S para dar $(\text{CH}_3)_3\text{AsS}$
$(\text{CH}_3)_3\text{As}$	sí	no	Trimetilarsina, fácilmente oxidada a $(\text{CH}_3)_3\text{AsO}$ y $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$
$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$	no	no	Ácido dimetilarsínico (DAMA). Estable e hidrosoluble, reducido a $(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$, reacciona con RSH para dar $(\text{CH}_3)_2\text{As}(\text{SR})$
$(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$	sí	no	Dimetilarsina (DMA), fácilmente oxidada a $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$
$(\text{CH}_3)_3\text{AsO}(\text{OH})_2$	no	no	Ácido monometilarsónico (MMAA). Estable e hidrosoluble, reducido a CH_3AsH_2 , reacciona con RSH para dar $\text{CH}_3\text{As}(\text{SR})_2$
CH_3AsH_2	sí	no	Metilarsina. Fácilmente oxidada a $\text{CH}_2\text{AsO}(\text{OH})_2$
$(\text{CH}_3)_2\text{AsSR}$	sí	no	Puede formarse en suelos anóxicos y sedimentos; reacciona con O_2 para dar $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$
$\text{CH}_3\text{As}(\text{SR})_2$	sí	no	Puede formarse en suelos anóxicos y sedimentos; reacciona con O_2 para dar $\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$
arsenoazúcares	no	no	AsAz. Detectados principalmente en algas, estables a pH neutro, reaccionan con ácidos/bases dando $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$
$(\text{CH}_3)_2\text{As}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	no	no	Dimetilarsinoiletanol
$(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	no	no	Arsenocolina (AC), fácilmente convertida a arsenobetaína
$(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$	no	no	Arsenobetaína (AB), puede dar $(\text{CH}_3)_3\text{AsO}$ y $(\text{CH}_3)_3\text{AsO}(\text{OH})$

En el ácido monometilarsónico, uno de los grupos hidroxilo del As inorgánico ha sido sustituido por un grupo metilo. Se encuentra ampliamente distribuido como especie minoritaria en el medio ambiente y en seres vivos. El ácido monometilarsinoso [MMA(III)] es una forma reducida monometilada, producto del metabolismo de As inorgánico, encontrada en muestras biológicas (orina y células). Se considera la especie arsenical con mayor grado de toxicidad. Sus sales sódicas se emplean como herbicidas.

En el ácido dimetilarsínico [DMA(V)], dos de los grupos hidroxilo del arsénico inorgánico han sido sustituidos por grupos metilo. El compuesto está ampliamente distribuido en el medio ambiente y seres vivos y, en algunos casos, puede ser la especie mayoritaria. Es el metabolito mayoritario del arsénico inorgánico. Se emplea como herbicida y preservante de madera. Se lo considera teratogénico y genotóxico *in vitro* a dosis elevadas.

El ácido dimetilarsinoso [DMA(III)] es la forma reducida dimetilada, una especie muy inestable, de difícil conservación. Producto del metabolismo del As inorgánico, ha sido encontrado recientemente en muestras biológicas (orina y células). Es una de las especies más tóxicas y de mayor capacidad genotóxica.

En el óxido de trimetilarsina [TMAO(V)], todos los grupos hidroxilo del As inorgánico han sido sustituidos por grupos metilo. Es el metabolito final del As inorgánico en animales como ratas y ratones, aunque este hecho no se ha evidenciado en el hombre. Está presente en forma minoritaria en algunos tipos de organismos, especialmente marinos. Sus efectos tóxicos no se conocen aún.

La arsenocolina (AC) es el catión trimetil-2-hidroxielarsonio. Ha sido encontrada en algunos animales marinos, principalmente en pescados blancos (pescados con contenido en grasa cercano al 1%, como la merluza o la pescadilla), camarones [15] y crustáceos. Es el precursor de la especie arsenical mayoritaria en animales marinos, la arsenobetaína (AB). Su toxicidad es baja.

La arsenobetaína es el zwitterión trimetil-(carboximetil)arsonio. Es la especie mayoritaria en organismos superiores marinos: peces y moluscos [16]. Está presente en organismos de agua dulce y terrestre en cantidades variables. Se descompone por acción microbiana a compuestos de menor grado de metilación (DMA, MMA y As inorgánico) tras la muerte de los organismos marinos. Posee baja toxicidad en sistemas celulares y no es tóxico *in vivo* en mamíferos. De allí que el consumo moderado de productos pesqueros no conlleve riesgo toxicológico.

El catión tetrametilarsonio está presente en organismos marinos (principalmente bivalvos y crustáceos) y en plantas terrestres. Se ha observado su formación en productos pesqueros a partir de la descomposición térmica de la AB. Tiene cierto carácter tóxico: se ha evidenciado daño del DNA en cultivos celulares humanos.

Los arsenozúcares dimetilados están presentes en organismos terrestres y marinos; en estos últimos, se han identificado hasta un total de 15 AsAz dimetilados. Los más comunes son los dimetilarsinoilribósidos, mayoritarios en algas y en algunos bivalvos. No presentan toxicidad *in vitro*, aunque pueden ser tóxicos *in vivo* por su metabolismo (transformación a DMA).

Los AsAz trimetilados (trimetilarsoniorribósidos) están presentes también en organismos marinos. En algas pardas, se ha encontrado el derivado sulfonado y, en gasterópodos, el hidroxilado. Se consideran posibles precursores de la AB y no existen estudios de su toxicidad.

Bajo el término arsenolípidos, se engloban diferentes compuestos, algunos de ellos hidrosolubles. Se han detectado recientemente 6 arsenolípidos mayoritarios (90% del As total) en aceites de pescado, cuya estructura se desconoce en su mayoría. No existen estudios sobre su toxicidad.

Con respecto al dimetilarsinoiletanol (DMAE), se lo considera un posible precursor de la AB y un producto de la biodegradación de los AsAz. Ha sido detectado en orina de ovejas y de humanos expuestos a AsAz [17].

El acetato de dimetilarsinilo (DMAA) está presente en muestras marinas (almejas). Es un producto de la degradación de AB y está presente en la orina de ovejas expuestas a AsAz [18] y en orina de humanos [19].

El propionato de trimetilarsonio (TMAP) es una betaína de reciente descubrimiento, encontrada en diferentes órganos de animales marinos [12] y en orina de humanos [19].

En aguas marinas, el As inorgánico pentavalente es transformado por el fitoplancton a las formas orgánicas MMA(V) y DMA(V) [10]. Como se ha dicho también, las formas orgánicas de As suelen aparecer en aguas naturales en concentraciones menores que las especies inorgánicas, aunque pueden incrementar su proporción como resultado de reacciones de metilación por actividad microbiana [5]. Las mayores concentraciones de formas metiladas se encuentran a nivel superficial, ya que en la zona fotosintéticamente activa, que tiene además una mayor carga microbiana y presencia de fitoplancton, se produce una mayor transformación del As inorgánico a las especies metiladas. La AB se detectó sólo en aguas superficiales [20]. Su presencia puede deberse a una intensa actividad biológica en este tipo de ambientes, aunque es degradada casi en su totalidad a As inorgánico a través de DMA(V). La AB fue identificada esencialmente en la biota marina [21] o en sedimentos marinos [22].

La AB y el DMA(V) fueron los compuestos mayoritarios detectados en sedimentos, aunque la concentración de los mismos decrece con la profundidad. Las especies metiladas son productos de degradación y/o el resultado de metilación bacteriana *in situ*, y son degradadas a As inorgánico bajo condiciones anóxicas por anaerobios facultativos u obligados [23].

El MMAA y el DMAA forman, al igual que los compuestos inorgánicos, complejos muy insolubles por la interacción con óxidos hidratados depositados en las arcillas de los sedimentos. Su adsorción está ligada a la concentración, pH y el tipo de arcillas, pero, generalmente, a mayor contenido de hierro, mayor la adsorción. Se presume que la transformación de compuestos organoarsenicales en los sedimentos es similar a la de los compuestos inorgánicos en suelos. Esto se observa para compuestos organoarsenicales sintéticos utilizados en agricultura, que se adsorben en los suelos y lixivian del mismo modo que los arseniatos; la adsorción es menor cuanto mayor es el número de sustituyentes metilo unidos al átomo de arsénico. La presencia de compuestos arsenicales orgánicos en el suelo ha sido extensamente estudiada debido a la aplicación de estos compuestos en la agricultura [24]. Las sales de los ácidos metil- y dimetilarsínico fueron utilizadas como herbicidas y pesticidas. Además, existen numerosos compuestos arsenicales sintéticos usados como aditivo alimentario animal, por ejemplo, el Roxarsone, ácido 3-nitro-4-hidroxifenilarsénico (Europa prohibió su uso en 1998), que promueve el crecimiento de los pollos y controla la infección coccidial. Este compuesto es luego transformado por los microorganismos en ácido 4-hidroxi-3-aminofenilarsónico, que contamina suelos y aguas. El arseniato de cromo y cobre (CCA) se utiliza comúnmente como agente preservante de la madera contra la degradación biológica; por ello, ha sido muy estudiada la capacidad de los hongos ligninolíticos para metabolizar As [14].

Las reacciones de metilación-desmetilación mediadas biológicamente son importantes en la distribución de dichos compuestos, ya que estos mecanismos se deben exclusivamente a los microorganismos presentes en suelos, ya sean hongos, levaduras o bacterias (*Methanobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Aspergillus*, *Penicillium*) ([14] y referencias allí citadas). A pesar de que las especies arsenicales detectadas en suelos son principalmente inorgánicas, también aparecen especies orgánicas en menor medida, como el MMA, DMA, TMAO, AB, TMA⁺, AC. Las especies metiladas del suelo también pueden proceder de la liberación de compuestos arsenicales a partir de los vegetales o de la acción de microorganismos capaces de metilar el As del suelo.

En las plantas se encuentran arsénico inorgánico y, en menor medida, especies orgánicas como el MMA, DMA, TMAO, AB, TMA⁺, AC y AsAz. Las plantas absorben el As a través de las raíces, en un proceso influenciado por las características del suelo (pH, materia orgánica, condiciones redox, biodisponibilidad) y de la propia planta. El As(V) es captado del suelo utilizando el transportador de membrana del fósforo, mientras que para el As(III) se utiliza un canal transportador de glicerol (acuoporinas). El As(V) se reduce a As(III), que posteriormente se une a las fitoquelatinas. Las plantas tienen capacidad para metilar el As, aunque, debido a las bajas concentraciones de especies orgánicas halladas en los vegetales, no se trata de una vía relevante para la transformación de las especies arsenicales captadas desde el suelo. En hongos y líquenes se detectó AB y AC, siendo la primera la especie mayoritaria en muchas especies. Se detectaron, además, trazas del AsAz glicerol ribosa [14].

En el caso de invertebrados terrestres, la capacidad de supervivencia en suelos con elevados contenidos de As depende de las metalotioneínas que posean. El arsénico ingerido o absorbido por vía dérmica en su estado trivalente se une a proteínas ricas en grupos tiol, siendo luego metilado a sus formas orgánicas.

En el caso de animales vertebrados, se detectó DMA en sangre como especie mayoritaria y, en orina, DMA en su mayoría y luego MMA, As(V), DMAE, TMA⁺.

1.4. CONCLUSIONES FINALES

Las formas más comunes del As en agua son oxianiones de As(III) o As(V). El As(III) es el más móvil y a su vez el más tóxico. Los potenciales redox y el pH son los factores más importantes que controlan la especiación, y ocasionan la elevada movilidad del elemento y la profunda variación en su concentración en los distintos cuerpos de agua (subterráneas, lagos, mar, aguas profundas, ríos, etc.). Aunque la termodinámica predice que las concentraciones de As(V) deberían siempre superar a las de As(III), salvo en condiciones fuertemente reductoras, en aguas naturales existe un importante desequilibrio que hace variar la relación As(V)/As(III).

Los compuestos orgánicos arsenicales, tanto pentavalentes (mayoritarios) como trivalentes, están ampliamente distribuidos en la atmósfera, aguas, suelos, sedimentos marinos y dulceacuícolas y tejidos biológicos; se encuentran principalmente en organismos marinos. Las reacciones de metilación mediadas biológicamente que ocurren en los organismos convierten el arsenito y el arseniato inorgánicos en compuestos metilados de toxicidad moderada como MMA(V), MMAA, DMA(V), DAMA, TMAO y TMA⁺, precursores de formas orgánicas más complejas y prácticamente no tóxicas, como arsenolípidos, AB, AC y AsAz.

La presencia de compuestos arsenicales orgánicos en el suelo proviene generalmente de su uso extendido en la agricultura y como aditivo alimentario animal. Por otro lado, las plantas absorben As a través de las raíces, en un proceso influenciado por las características del suelo y de la propia planta.

En los organismos animales, incluyendo al ser humano, existe una elevada transformación entre especies arsenicales inorgánicas y orgánicas, regulada por las condiciones ambientales. Las diferentes características físicas y químicas de las formas químicas presentes en el medio ambiente [As(V), As(III), MMA, DMA, TMA⁺, AC, AB, AsAz, etc.], dan como resultado diferentes grados de movilidad, biodisponibilidad y toxicidad de los compuestos.

REFERENCIAS

1. J. Bundschuh, A. Pérez Carrera, M.I. Litter (eds): *Distribución del arsénico en la región Ibérica e Iberoamericana*, CYTED, Buenos Aires, Argentina, 2008.
2. Kumaresan, M., Riyazuddin, P.: Overview of speciation chemistry of arsenic, *Current Sci.* 80 (2001), págs. 837-846.
3. Smedley, P., Kinniburgh, D.: A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Appl. Geochem.* 17 (2002), págs. 517-568.
4. Mandal, B., Suzuki, K.: Arsenic round the world: a review. *Talanta* 58 (2002), págs. 201-235.
5. Hasegawa, H., Matsui, M., Okamura, S., Hojo, M., Iwasaki, N., Sohrin, Y.: Arsenic speciation including "hidden" arsenic in natural waters. *Appl. Organomet. Chem.* 13 (1999), págs. 113-119.
6. Adriano, D.: Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals: Cap. 7: Arsenic. 2ª. Ed., Springer-Verlag, Berlín, Alemania, 2001, págs. 220-256.
7. Lillo, J.: Peligros geoquímicos: arsénico de origen natural en las aguas. *Escuela Superior de Ciencias Experimentales y Tecnología, Universidad Rey Juan Carlos*. www.ucm.es, Madrid, España, 2003
8. Brookins, D.: Eh-pH diagrams for geochemistry. En: C.R. (ed): *Arsenic exposure and health*. Science and Technology Letters. Springer-Verlag, Berlín, Alemania, 1988, págs. 91-100.
9. Yan, X., Kerrich, R., Hendry, M.: Distribution of arsenic(III), arsenic(V) and total inorganic arsenic in pore-waters from a thick till and clay-rich aquitard sequence, Saskatchewan, Canada. *Geochim. Cosmochim. Acta* 64 (2000), págs. 2637-2648.
10. Das A.K., de la Guardia M., Cervera M.L.: Literature survey of on-line elemental speciation in aqueous solutions. *Talanta* 55 (2001), págs. 1-28.
11. Baur, W., Onishi, B.: Arsenic. En: K.H. Wedepohl (ed): *Handbook of geochemistry*. Springer-Verlag, Berlín, Alemania, 1969, págs. 33-A-1-33-0-5.
12. Dembitsky, V.M., Levitsky, D.O.: Arsenolipids. *Progress Lipid Res.* 43 (2004), págs. 403-448.
13. Gebel, T.W.: Genotoxicity of arsenical compounds. *Int. J. Hygiene Environ. Health* 203 (2001), págs. 249-262.
14. Cullen, W.R., Reimer, K.J.: Arsenic speciation in the environment. *Chem. Rev.* 89 (1989), págs. 713-764.
15. Norin, H., Ryhage, R., Christakopoulos, A., Sandstrom, M.: New Evidence for the presence of arsenocholine in shrimps (*Pandalus borealis*) by use of pyrolysis gas chromatography-atomic absorption spectrometry/mass spectrometry. *Chemosphere* 12 (1983), págs. 299-315.
16. Lawrence, J.F., Michalik, P., Tam, G., Conacher, H.B.S.J.: Identification of arsenobetaine and arsenocholine in Canadian fish and shellfish by high-performance liquid chromatography with atomic absorption detection and confirmation by fast atom bombardment mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 34:2 (1986), págs. 315-319.
17. Francesconi, K.A., Tanggaard, R., McKenzie, C.J., Goessler, W.: Arsenic metabolites in human urine after ingestion of an arsenosugar. *Clin. Chem.* 48 (2002), págs. 92-101.
18. Hansen, H. R., Raab, A., Francesconi, K.A., Feldmann, J.: Metabolism of arsenic by sheep chronically exposed to arsenosugars as a normal part of their diet. 1. Quantitative intake, uptake, and excretion. *Environ. Sci. Technol.* 37 (2003), págs. 845-851.
19. Sloth, J.J., Larsen, E.H., Julshamn, K.: Selective arsenic speciation analysis of human urine reference materials using gradient elution ion-exchange HPLC-ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom.* 19 (2004), págs. 973 - 978.
20. Ronkart, S.N., Laurent, V., Carbonnelle, P., Mabon, N., Copin, A., Barthélemy, J.-P.: Speciation of five arsenic species (arsenite, arsenate, MMAAV, DMAAV and AsBet) in different kind of water by HPLC-ICP-MS. *Chemosphere* 66 (2007), págs. 738-745.
21. Hanaoka, K., Gössler, W., Irgolic, K.J., Ueno, S., Käise, T. Occurrence of arsenobetaine and arsenocholine in microsuspended particles. *Chemosphere* 35 (1997), págs. 2463-2469.
22. Takeuchi, M., Terada, A., Namba, K., Kanai, Y., Owaki, M., Yoshida, T., Kuroiwa, T., Nirei, H., Komai, T. Distribution and fate of biologically formed organoarsenicals in coastal marine sediment. *Appl. Organomet. Chem.* 19 (2005), págs. 945-951.
23. Hasegawa, H.: The behavior of trivalent and pentavalent methylarsenicals in Lake Biwa. *Appl. Organomet. Chem.* 11 (1997), págs. 305-311.
24. Woolson, E.A.: Fate of arsenicals in different environmental substrates. *Environ. Health Perspect.* 19 (1977), págs. 73-81.

Capítulo 2

Tratamiento de las muestras de agua, suelos y sedimentos para determinación de arsénico

JULIO C.J. SILVA Y VIRGINIA S.T. CIMINELLI

2.1. RECOLECCIÓN Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS DE AGUA PARA EL ANÁLISIS DE ARSÉNICO

El objetivo del muestreo es recoger una muestra representativa para el análisis, de forma que el resultado obtenido proporcione un diagnóstico realista del universo investigado. Las muestras deben ser recogidas, acondicionadas, transportadas y manipuladas de acuerdo a un protocolo previamente definido [1, 2].

Antes del muestreo, es conveniente elegir la fracción de la muestra que será estudiada (en solución, como material en suspensión, total, o extraído con ácido). Esta decisión permitirá que el analista determine si la muestra será acidificada con o sin filtración, así como el procedimiento de digestión más adecuado. Hay que tener en cuenta que se podrían introducir errores graves durante el muestreo y almacenamiento de las muestras, lo cual podría ocurrir debido a la contaminación de los equipos de muestreo, la descontaminación inadecuada de recipientes y contenedores y la pérdida de metales de interés por adsorción o precipitación en los recipientes debido a una acidificación inadecuada [3].

2.1.1. Preparación de los frascos para la recolección

Los frascos a ser utilizados en el muestreo deben ser específicamente fabricados para el almacenamiento de muestras líquidas, ya que para un grupo particular de analitos existen tipos, materiales y tamaños de frascos específicos, así como los tipos de tapa que se utilicen [1]. En el caso del arsénico, se recomienda la utilización de vidrio de borosilicato o Pyrex, aunque es también posible la utilización de polietileno [4]. El material debe ser necesariamente opaco para evitar la oxidación de As(III) en presencia de hierro [5].

Para la descontaminación de los frascos a ser empleados en la recolección de las muestras de agua, se recomienda llenar el frasco con ácido nítrico 10% v/v dejándolo en inmersión por lo menos durante 24 horas. Otra opción es dejar el frasco sumergido (tener en cuenta la presencia de burbujas) en un baño ácido con la misma concentración [1]. Luego se debe vaciar y enjuagar por lo menos cinco veces con agua destilada. En caso de análisis de concentraciones traza, se recomienda el lavado con agua desionizada. Las tapas deben sufrir el mismo tratamiento. Se recomienda también la utilización de reactivos ultrapuros o destilados [1, 3].

2.1.2. Muestreo de agua

La técnica de muestreo a ser utilizada para la recolección de la muestra depende del objetivo del muestreo y del tipo de elemento o compuesto químico a ser determinado, entre otros aspectos. Sin embargo, independientemente del objetivo del plan de muestreo, deben tomarse las siguientes precauciones [6]:

a) Las muestras no deben incluir partículas grandes, desechos, hojas u otro tipo de material accidental, salvo cuando se trate de muestras de sedimentos; además, deben ser filtradas en algunos casos, como en el análisis de metales disueltos.

b) Para minimizar la contaminación de la muestra, conviene recogerla con la boca del frasco de recolección contra la corriente.

c) Se recomienda tomar un volumen suficiente de muestra para eventuales necesidades de repeticiones.

d) Se recomienda la realización de todas las determinaciones de campo, tales como pH y conductividad, en alícuotas de muestras separadas de las que serán enviadas al laboratorio, evitando así el riesgo de contaminación.

e) Se deben limpiar conscientemente los frascos y demás materiales de recolección. Es importante recordar que en gran parte de los casos la contaminación de los frascos no es visible ni siquiera al microscopio.

f) La parte interna de los frascos no debe ser tocada con la mano ni quedar expuesta al polvo, humo u otras impurezas.

g) Las personas recolectoras deben mantener las manos limpias y usar guantes.

h) Los frascos deben ser llenados completamente e, inmediatamente después de la recolección, las muestras deben ser mantenidas fuera del alcance de la luz solar.

i) Las muestras que exijan refrigeración para su preservación deben ser acondicionadas en cajas de poliestireno con hielo inmediatamente después de la recolección. No debe añadirse sal al hielo para evitar una posible contaminación de las muestras.

j) Se debe mantener un registro de todas las informaciones de campo, llenando una ficha de recolección por muestra o conjunto de muestras de la misma característica.

k) El muestreo en pequeños cursos de agua debe hacerse aguas arriba y aguas debajo de las fuentes de contaminación, con la inclusión opcional de puntos adicionales para evaluar el grado de contaminación o asimilación de carga orgánica a lo largo del tramo en estudio.

l) En el caso de aguas subterráneas, deben considerarse protocolos específicos para evitar la alteración de las muestras, tales como tiempo de bombeo, toma con equipos o botellas de muestreo, recolección de muestras a distintas profundidades. Deben también obtenerse datos de los pozos (profundidad del pozo, profundidad de los niveles estático y dinámico, tipo de bomba, profundidad del ranurado, etc.).

2.1.3. Filtración y preservación de muestras de agua

La separación entre las especies de arsénico disuelto (fase acuosa) y arsénico ligado a material particulado/coloidal (precipitado) puede hacerse a través de filtros de membrana (policarbonato o ésteres de celulosa), colocado en un soporte de plástico o fluorocarbono. Se debe tener en cuenta que lo que queda retenido constituye los sólidos en suspensión, mientras que lo que pasa por el filtro es el arsénico disuelto. El filtrado debe ser obtenido directamente a través de la filtración de la muestra, antes de la adición de cualquier preservante químico. Preferentemente, las muestras deberán ser filtradas en campo, anotándose el volumen filtrado correspondiente al residuo retenido, para ser tenido en

cuenta en la interpretación de los datos [2,3,5,7,8]. Los filtros con el residuo protegido contra pérdidas o impurezas pueden guardarse (preferentemente bajo refrigeración) para el análisis del material en suspensión (particulado) [1].

En el caso de la especiación de arsénico, se recomienda la utilización de un filtro de 0,1 – 0,2 μm , pues filtros con tamaño de poro mayor, como 0,45 μm , además de no retener las partículas coloidales (por ejemplo, oxihidróxido de hierro (FeOOH)), que pueden actuar como adsorbentes del arsénico, son menos efectivos en la reducción de la población microbiana, lo que puede llevar a una sobreestimación de la concentración de arsénico disuelto. La literatura indica, sin embargo, que la utilización de filtros de 0,45 μm , en algunos casos, no compromete la especiación [4,5,7,8].

La filtración debe ser realizada bajo presión positiva a fin de evitar la perturbación del medio, principalmente cuando se trata de aguas subterráneas. Es fundamental registrar el volumen de la alícuota que fue tomada para llenar cada frasco, así como el volumen total que pasa por el filtro. Medidas complementarias de pH, temperatura, oxígeno disuelto, turbidez, conductividad, potencial de óxido-reducción (Eh), y alcalinidad son importantes en estudios geoquímicos y de especiación. Estos parámetros deben ser medidos preferentemente en campo [3].

La preservación de la muestra puede incluir la adición de compuestos químicos o la simple filtración y refrigeración. Para cada tipo o grupo de analito (compuesto o elemento químico de interés) es necesario determinar, en caso necesario, el tipo de preservación más adecuada. Aunque no hay consenso en cuanto al reactivo más indicado para la preservación de muestras de agua para análisis de arsénico y sus especies, se indican a continuación algunos de los más empleados en la literatura, con sus respectivas concentraciones.

2.1.4. Preservación de muestras para la determinación de arsénico total

Las muestras deben ser preservadas inmediatamente después del muestreo. Esto se realiza, generalmente, por la acidificación con ácido nítrico, HNO_3 , 0,15% v/v. Para muestras con alta capacidad reguladora, se debe aumentar la concentración del ácido (0,5% v/v). En caso de la utilización de la técnica de generación de hidruros asociada con alguna técnica espectroanalítica, se recomienda la acidificación con 0,5% v/v de ácido clorhídrico, HCl, grado para elementos traza [3].

2.1.4.1. Preservación de muestras para especiación de arsénico

Las especies de arsénico tienden a ser inestables en aguas naturales. La inestabilidad es fuertemente dependiente de las condiciones redox del medio, pH, presencia de agentes precipitantes como Fe(II) y Fe(III), materia orgánica y actividad microbiana [5,8,9]. A continuación, se presentan algunos de los reactivos usados en la preservación de muestras de agua para la especiación de arsénico (inorgánico y orgánico).

i) Ácido clorhídrico: a una concentración de 24 mmol L^{-1} puede estabilizar muestras de aguas subterráneas ricas en especies disueltas, como calcio, magnesio y hierro, y con bajo potencial de óxido-reducción (0 - 100 mV) por hasta 15 semanas [7]. A 18 mmol L^{-1} puede usarse para la estabilización de muestras de drenaje ácido de minas con alta concentración de sólidos disueltos por hasta 48 horas [10]. McCleskey y col. [5] y Quinúa y col. [11] usaron HCl 6 mol L^{-1} para estabilizar muestras de agua superficial habiendo obtenido la estabilización de las mismas por hasta 3 días [5,11]. McCleskey y col. [5] también emplearon HCl (96 mmol L^{-1}) para la estabilización de muestras de origen geotérmico y de drenaje ácido de minas. En este estudio, los autores obtuvieron una estabilización de hasta 19 meses.

Importante: en el caso de la utilización de HCl como reactivo preservante y ICP-MS como técnica analítica, se debe tener en cuenta la interferencia de la especie poliatómica $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$. En algún caso, puede ser necesaria la utilización de un sistema cromatográfico de separación acoplado al ICP-MS [7].

ii) Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA): Gallagher y col. [2, 12] usaron EDTA para estabilizar muestras de agua potable y subterránea por hasta 3 (1,25 mmol L⁻¹) y 10 días (1,7 mmol L⁻¹), respectivamente [2, 12]. Este reactivo (EDTA 0,25 mol L⁻¹) también puede usarse para estabilizar muestras de drenaje ácido de minas y agua subterránea por hasta 3 meses [13, 14]. Usando la combinación EDTA-ácido acético (1,34/87 mmol L⁻¹), se observó que las muestras de agua subterránea, incluso sin refrigeración, fueron preservadas por hasta 48 horas. En el caso de muestras refrigeradas, el tiempo de preservación se extendió por hasta 30 días [9].

iii) Ácido fosfórico (H₃PO₄): ensayos con este reactivo demostraron que a pH < 2, es posible estabilizar muestras de agua subterránea con baja concentración de hierro por hasta 15 días [8]. En una concentración de 10 mmol L⁻¹, es posible estabilizar muestras de agua de la infiltración de mina por hasta 3 meses, incluso aunque presenten altos contenidos (hasta 100 mg L⁻¹) de hierro y manganeso [15, 16].

2.1.4.2. Temperatura de almacenamiento

Después de acidificar la muestra, es aconsejable el almacenamiento a una temperatura de aproximadamente 4 °C (debe evitarse el congelamiento) para evitar la alteración del volumen por evaporación, y al abrigo de la luz para evitar actividad microbiana y reacciones químicas indeseables. En estas condiciones, muestras con altas concentraciones de arsénico (mg L⁻¹) pueden permanecer estables por hasta seis meses (As total). Para concentraciones a nivel de trazas (µg L⁻¹), se aconseja el análisis de las muestras luego del muestreo [3,4,7,15,16]. En la Figura 2.1 se ilustra un protocolo completo de preservación, almacenamiento y análisis.

2.2. MUESTREO DE SUELOS Y SEDIMENTOS

El suelo es un sistema complejo, en equilibrio, formado por una parte sólida compuesta por partículas minerales y materia orgánica, por una parte líquida (la solución del suelo), y por una parte viva, constituida por organismos del suelo, además de los espacios ocupados por gases. En razón de la complejidad del sistema y de la íntima relación entre las fases que la componen, los metales o metaloides se encuentran distribuidos de diversas maneras en el suelo como: (i) iones o complejos disueltos en la solución del suelo, (ii) especies adsorbidas por atracción electrostática (en material de origen orgánico o inorgánico), pudiendo intercambiarse con otros iones de la solución del suelo, (iii) iones más fuertemente ligados a los sitios de intercambio, formando quelatos insolubles con ligandos orgánicos u organominerales, (iv) ocluidos en óxidos de hierro, aluminio u otras sales insolubles, (v) incorporados a microorganismos y sus residuos biológicos, y (vi) incorporados a la red cristalina minerales silicatados, primarios o secundarios. Todo metal o metaloide incorporado a la solución del suelo puede haber atenuado por ello su concentración, a través de fenómenos de intercambio catiónico, adsorción, quelación, oclusión y precipitación [17].

Los sedimentos constituyen un factor muy importante del sistema acuático, por su participación en el equilibrio de los contaminantes solubles/insolubles y por su mayor permanencia en el cuerpo de agua. En general, son constituyentes de las cargas

contaminantes recibidas por las aguas (memoria del ecosistema). Los contaminantes presentes en los sedimentos pueden retornar al cuerpo de agua a través de alteraciones en las condiciones fisicoquímicas del cuerpo de agua (temperatura, pH, alcalinidad, niveles de oxidación-reducción), o también a través de actividades biológicas y microbiológicas [1, 5].

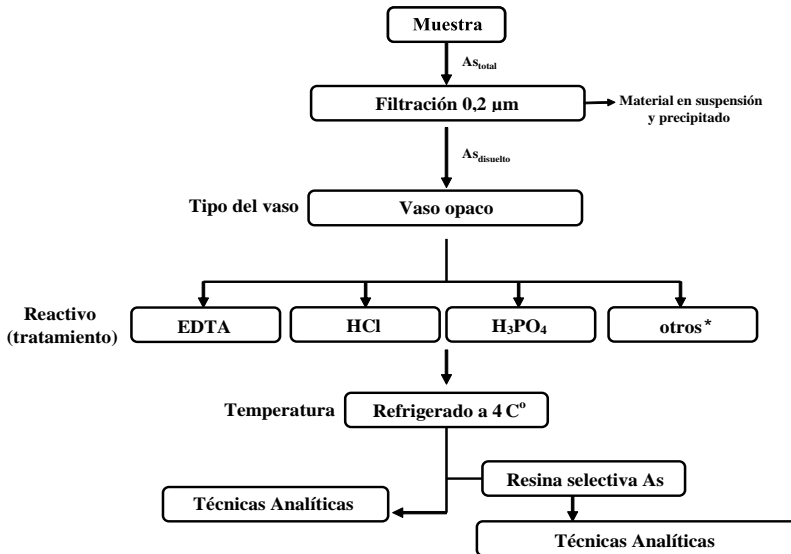


Figura 2.1. Protocolo de preservación, almacenamiento y análisis de muestra para especiación de arsénico. *ácido acético [10, 11, 15], mezcla de ácido clorhídrico, yodito de potasio y cloruro estannoso [11], tampón citrato de sodio/ácido cítrico [11], ácido sulfúrico [4, 5, 9, 14], hidróxido de sodio [4], tetracloruro de carbono [4], ácido ascórbico [5], ácido nitrilotriacético [5].

Generalmente, los sedimentos de interés ambiental son aquellos que permanecen en las capas superficiales y están finamente divididos ($< 200 \mu\text{m}$). Las muestras pueden ser obtenidas a través de dragas, espátulas o pinzas [1].

Las muestras deben ser acondicionadas en frascos de boca ancha, de polietileno, para análisis de arsénico y metales, nutrientes y carga orgánica (DBO, DQO y TOC), o de vidrio para compuestos orgánicos, como pesticidas, aceites y grasas. Se recomienda congelar la muestra a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ para preservar su integridad, dejando una alícuota sin refrigerar para análisis granulométrico [1, 18].

Algunos estudios requieren un conocimiento más detallado, en cuyo caso debe investigarse la historia de la formación y la composición del sedimento. En estos casos, se necesita seleccionar una muestra que preserve la integridad de las distintas capas geológicas que forman el depósito, de modo que puedan ser separadas y analizadas individualmente. Para ello, es necesario emplear los muestreadores de núcleo, más conocidos como testimonios (*core samplers*) [1, 18].

Se aconseja la recolección de alrededor de 1 kg de muestra. Se debe descartar el exceso de agua y secar la muestra a temperatura ambiente o por debajo de $40 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta masa constante (Figura 2.2). Algunos autores recomiendan la utilización de las muestras húmedas a fin de preservar las condiciones redox del medio [19]. Después del secado de las muestras, se deben retirar materiales indeseados, como rocas, ramas, hojas y otros. Se deben también descartar partículas mayores que 2 mm pues son poco reactivas. Este procedimiento es aplicable tanto en suelos como en sedimentos [20-22].



Figura 2.2. Ejemplo de secado de una muestra de sedimento en una bandeja de polietileno protegida de la contaminación externa (secado a temperatura ambiente).

2.2.1. Preparación física de suelos y sedimentos

Inicialmente, la muestra debe ser desaglomerada mediante su disposición sobre una superficie adecuada, por ejemplo, una pieza de cuero de 60×60 cm y de 4-5 mm de espesor, separándose la fracción más gruesa. Mediante presión manual, empleando un palo de madera, o un instrumento semejante, se deben desaglomerar los trozos mayores con cuidado para no quebrar rocas o concreciones [23].

El muestreo puede ser hecho en dos etapas: (i) reducción de la masa inicial hasta aproximadamente 50 g a través de un cuarteador del tipo “Jones” (Figura 2.3) y (ii) reducción de la masa hasta aproximadamente 5 g a través, por ejemplo, de un muestreador rotativo de Rifles (Figura 2.4) [23]. Después del muestreo, se debe pulverizar la muestra, por ejemplo, en mortero de ágata o en un molino adecuado, hasta una granulometría menor o igual a $106 \mu\text{m}$ (150 Tyler) [24].



Figura 2.3. Ejemplo de cuarteador del tipo “Jones” utilizado para muestreo.



Figura 2.4. Ejemplo de muestreador rotativo de Rifles.

2.3. DIGESTIÓN DE MUESTRAS DE AGUA Y SUELOS/SEDIMENTOS USANDO HORNO DE MICROONDAS

En los análisis por espectrometría de absorción atómica con llama (FAAS), espectrometría de emisión atómica con fuente de plasma (ICP-OES), espectrometría de masa con fuente de plasma (ICP-MS) y sus variantes (introducción por inyección en flujo - FIA, generación de hidruros - HG y vapor frío - CV), se necesitan soluciones homogéneas. El análisis elemental de diversas matrices como las biológicas, botánicas, geológicas, ambientales y metalúrgicas requiere de la digestión previa de la muestra antes del análisis instrumental. En el caso de elementos volátiles a baja temperatura (por ej. As, Hg, Se y sus compuestos) o compuestos refractarios (tierras raras, carburos y otros), el empleo de métodos de digestión asistidos por calentamiento con radiación de microondas usando frascos cerrados es un prerrequisito para evitar pérdidas por volatilización, además de evitar problemas normalmente observados en los procedimientos convencionales de digestión, tales como la posibilidad de descomposición incompleta, etapas largas y exhaustivas y riesgos de contaminación. La utilización del método de digestión usando radiación de microondas en frasco es especialmente interesante considerando la importancia de estudios con relación a especies tóxicas [25-27].

2.3.1. Instrumentación

Independientemente del fabricante, son necesarios algunos requisitos para la ejecución correcta y segura de procedimientos de digestión de muestra usando horno de microondas, tales como la utilización de un equipo con programación de potencia (mínimo 545 W), resistente a la corrosión, bien ventilado y con todas sus partes electrónicas protegidas de la corrosión. El horno debe contener un rotor con plataforma giratoria a fin de asegurar la distribución homogénea de la radiación de microondas. Debe evitarse la utilización de hornos de microondas domésticos debido al riesgo de explosión. Por otro lado, se

recomienda el empleo de recipientes de digestión cerrados equipados con sistema de alivio de presión, específicamente diseñados para trabajar con ácidos en caliente [3].

2.3.2. Descontaminación del vaso de digestión

El recipiente de digestión debe estar construido en un material apropiado como politetrafluoretileno (PTFE), perfluoroalcoxi (PFA) o tetrafluorometoxil (TFM), y ser capaz de resistir presiones de por lo menos 100 psi (agua), y 430 psi (suelos y sedimentos). Los frascos deben, necesariamente, estar equipados con un sistema de alivio controlado de presión. Normalmente el volumen es de aproximadamente 125 mL.

La descontaminación de los frascos debe hacerse en baño ácido (HNO_3 10% v/v) por lo menos durante 24 horas (de la misma forma que los frascos usados para muestreo). Después de la descontaminación, los frascos de digestión deben ser enjuaguados por lo menos cinco veces con agua desionizada. En el caso de recipientes nuevos o en la intercalación de muestras con concentraciones altas y bajas, se debe lixiviar el frasco en caliente (temperatura superior a 80°C , pero sin llevar a ebullición) con ácido clorhídrico (50% v/v) por un mínimo de 2 h y, a continuación, con ácido nítrico (50% v/v) por un mínimo de 2 h; luego se debe proceder al enjuague con agua y secado. Este procedimiento puede ser usado siempre que no se conozca la utilización previa del frasco de digestión o hubiera riesgo de contaminación cruzada [3].

La descontaminación de los frascos también puede hacerse usando el mismo horno de microondas. En este caso, el procedimiento involucra la adición de 5 mL de HNO_3 concentrado a cada frasco. Se puede usar el siguiente programa de calentamiento: 10 minutos (500 W), 2 minutos de enfriamiento (0 W) y ventilación por 10 minutos. Al término del ciclo de calentamiento, los frascos deben enjuagarse como se describió anteriormente. En caso de que se utilice un sistema de enfriamiento con circulación de agua (algunos fabricantes brindan esta opción), el tiempo medio para la apertura de los frascos se reduce a unos 10 minutos [28]. En los casos en que no se dispusiera de este accesorio, el tiempo medio para el enfriamiento debe ser de 30-40 min. Hoy ya existen equipos en los cuales la reducción de la presión se hace en el interior del mismo, reduciéndose bastante el tiempo entre cada ciclo de calentamiento.

Importante: los frascos nunca deben abrirse inmediatamente después del término del programa de calentamiento debido a la alta presión existente en el interior de los mismos. No se debe tampoco usar baño de hielo para el enfriamiento de los frascos, ya que el choque térmico puede dañar los recipientes [3]. Es recomendable la utilización de un accesorio para el control de la presión y temperatura, principalmente en el caso del desarrollo de un método para muestras desconocidas. En ausencia de dicho accesorio, se debe evitar la utilización de potencias mayores del 60% de la potencia máxima del horno, cuando ésta fuera de 1000 W [28, 29].

2.3.3. Reactivos

Los reactivos normalmente empleados en los procedimientos de digestión de muestras usando horno de microondas son: agua desionizada, ácido nítrico (HNO_3) concentrado, peróxido de hidrógeno (H_2O_2) concentrado, ácido fluorhídrico (HF) concentrado, ácido bórico (H_3BO_3) concentrado, ácido clorhídrico (HCl) concentrado. En el caso del análisis de concentraciones traza, se recomienda la utilización de reactivos de alta pureza o destilados por debajo de su temperatura de ebullición.

2.3.4. Calibración del horno del microondas

La calibración del horno de microondas se debe realizar de modo semejante a lo recomendado por la agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (EPA) [1, 3, 29]. Puede evaluarse la medida de la potencia disponible de un horno de microondas para calentamiento, de modo tal que se pueda transferir la potencia absoluta en vatios de un horno a otro, es decir, estandarizarla. Para los equipos con cavidad, la calibración se realiza a través de la medida de la variación de temperatura de una masa de agua expuesta a la radiación de microondas en un determinado intervalo de tiempo. De esta forma, es posible correlacionar la potencia en vatios con las unidades arbitrarias del equipo. Algunos equipos poseen una relación lineal exacta y precisa entre los valores de unidades arbitrarias y la potencia absorbida. En estos casos, se obtiene una curva de calibración realizando medidas de variación de temperatura en valores diferentes de la potencia aplicada. Se representa entonces una curva de potencia de salida (vatios) en función del porcentaje de potencia programada para el horno [3, 30].

La calibración del horno de microondas puede realizarse pesando 1000 g de agua desionizada en un matraz de polietileno (es necesario que sea transparente a la radiación microondas) de 1000 mL, por triplicado. Debe medirse la temperatura inicial del agua (T_i), la cual debe estar a alrededor de 24 °C. A continuación, la muestra de agua debe ser calentada por 120 segundos al 100% de potencia. Debe medirse la temperatura final del agua (T_f) durante los 30 segundos después de la finalización del calentamiento. Luego, se deja llegar a la muestra a la temperatura ambiente (24 °C). Otra opción es cambiar la muestra de agua calentada por otra a la temperatura de 24 °C. El procedimiento descrito debe repetirse a 80, 60, 40 y 20% de potencia, también en ensayos por triplicado [30]. Después de la aplicación del procedimiento anterior, puede calcularse la potencia de la unidad de microondas de acuerdo a la ecuación:

$$\text{Potencia(W)} = \frac{K \times C_p \times m \times \Delta T}{t} \quad (2.1)$$

donde:

K = factor de conversión de calorías s⁻¹ en vatios (= 4,184 W cal⁻¹ s)

C_p = calor específico del agua (cal g⁻¹ °C⁻¹)

m = masa de agua usada (g)

ΔT = T_f - T_i (diferencia entre la temperatura final y la inicial en °C)

t = tiempo de calentamiento

Obs.: para m = 1000 g y t = 120 s, la ecuación se simplifica a la siguiente:

$$\text{Potencia(W)} = 34,87 \times \Delta T \quad (2.2)$$

2.3.4.1. Digestión de muestras de agua usando horno de microondas

El procedimiento de digestión de muestras de agua debe ser empleado solamente cuando fuera necesario, por ejemplo, en la determinación del metal o metaloide total y si hubiera formación de precipitado después de la acidificación del filtrado. En el caso de la determinación de metales o metaloides asociados al material en suspensión, se debe proceder a la digestión de los filtros usados en la filtración del material. En este caso, se sugiere la transferencia de unos 10 mL (porción de 10 – 80 mL dependiendo del frasco) de la muestra al frasco de digestión del horno de microondas. A continuación, se agregan 2 mL de HNO₃ (concentrado) y 2 mL H₂O₂ (concentrado). Después del cerrado de los frascos, se procede al primer ciclo de calentamiento. Después del enfriamiento,

se transfiere la solución resultante, por ejemplo, a un frasco de polietileno graduado tipo *falcon* (tubo de centrífuga graduado) y se lleva la solución a 50 mL [30-32].

Se recomienda siempre la preparación de blancos de las muestras de cada digestión realizada. Aunque lo ideal sería eliminar todas las fuentes posibles de contaminación, un blanco preparado con la misma mezcla ácida usada en la digestión de las muestras y sometida al mismo procedimiento de digestión puede corregir los aumentos de concentración provenientes de las impurezas presentes en los reactivos empleados. También es importante para la validación y control del método utilizado el empleo de muestras de referencia certificadas, tales como NIST 1640 – *Trace Elements in Natural Waters*, SLRS-4 – *River Water Reference Material for Trace Metals*, BCR 610 – *Trace Elements in Groundwater*, entre otras. Si no se dispone de estas muestras, los estudios de adición y recuperación (ecuación 3) pueden ser alternativas importantes. Las condiciones generales para el procedimiento de digestión usando horno de microondas con cavidad y frasco cerrado se presentan en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Programa de calentamiento para el horno de microondas para muestras de agua (datos centralizados)

Etapa	Tiempo (min)	Potencia (W)
1	5	250
2	5	400
3	5	500
4	1	600
Ventilación	10	-

$$\% \text{ Recuperación} = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100\% \quad (2.3)$$

donde:

C_1 = la concentración de la muestra más concentración agregada

C_2 = la concentración de la muestra

C_3 = la concentración agregada.

2.3.4.2. Digestión de muestras de suelos y sedimentos usando horno de microondas

Para la determinación de las concentraciones de metales y As totales, se pesan alrededor de 100 mg de muestra directamente en el frasco de digestión del horno de microondas y se adicionan 2 mL de HNO_3 (concentrado) y 2 mL de HF (concentrado). Se cierran los frascos y se procede al primer ciclo de calentamiento. Después del enfriamiento, se agrega 1 mL de HF (concentrado), se cierran nuevamente los frascos y se procede al segundo ciclo de calentamiento. Después del enfriamiento, se agregan unos 500 mg de H_3BO_3 y se procede al tercer ciclo de calentamiento. Después del enfriamiento, se transfiere la solución resultante a un frasco de polietileno graduado tipo *falcon* (tubo de centrífuga graduado) y se completa el volumen a 50 mL en matraz volumétrico. Las condiciones generales para el procedimiento de digestión usando horno de microondas con cavidad y frasco cerrado se presentan en la Tabla 2.2. Así como en el caso de la puesta en solución de las muestras de agua, la utilización de muestras de referencia certificadas, como NIST 2702 – *Marine Sediments*, NIST 2710 – *Montana Soil*, NIST 2780 – *Hard Rock Mine Waste*, NIST 8704 – *Buffalo River Sediment*, entre otras, y la realización de estudios de adición y recuperación, son importantes para el control de calidad de los datos obtenidos [31, 33].

Tabla 2.2. Programa de calentamiento para el horno de microondas para muestras de suelos y sedimentos.

Etapa	Tiempo (min)	Potencia (W)
1	5	250
2	5	400
3	5	500
4	10	600
5	5	300
Ventilación	10	-

2.4. CONCLUSIONES

Para estabilizar las especies redox del arsénico disueltas, se recomienda que las muestras sean filtradas, conservadas con un reactivo adecuado para estabilizar Fe, y guardadas en la oscuridad. La filtración de la muestra elimina la mayoría del material coloidal y microorganismos que pueden afectar la proporción As(III)/As(V) disuelto. La acidificación evita la coprecipitación o adsorción del arsénico en hidróxidos de hierro y manganeso. Aún no se ha llegado a un consenso con respecto del reactivo más adecuado para esta finalidad. Se recomienda la realización de estudios de estabilidad de las especies de interés en presencia de los diferentes reactivos usados para preservar las muestras, antes de definir el procedimiento de recolección y preservación. La exclusión de la luz evita reacciones fotoquímicas que pueden afectar la reacción redox del arsénico. La utilización de un horno de microondas equipado con frascos cerrados es importante para evitar pérdidas por volatilización, además de evitar problemas normalmente observados en los procedimientos convencionales de digestión, tales como la posibilidad de descomposición incompleta, etapas largas y exhaustivas, y riesgos de contaminación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq), *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) y *Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais* (FAPEMIG). Los autores agradecen en particular, a la Dra. Marta Litter por la traducción al español y la colaboración indispensable para la publicación de este capítulo. Los autores son miembros del Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología (INCT-Acqua).

REFERENCIAS

1. Guia de coleta e preservação de amostras de água. CETESB, São Paulo, 1988.
2. Gallagher, P.A., Schwegel, C., Parks, A., Gamble, B.M., Wymer, L., Creed, J.T.: Preservation of As(III) and As(V) in drinking water supply samples from across the United States using EDTA and acetic acid as a means of minimizing iron-arsenic coprecipitation. *Environ. Sci. Technol.* 38 (2004), págs. 2919-2927.
3. Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater. 21a. Ed., APHA, 2005, págs. 3.11-3.52.
4. Pandey, P. K., Yadav, S., Nair, S., Pandey, M.: Sampling and preservation artifacts in arsenic analysis: implications for public health in developing countries. *Current Science* 86 (2004), págs.1426-1432.
5. McCleskey, R.B., Nordstrom, D.K., Maest A.S.: Preservation of water samples for arsenic

- (III/V) determination: an evaluation of the literature and new analytical results. *Appl. Geochem.* 19 (2004), págs. 995-1009.
6. Vasconcelos, F.M.: Curso de amostragem e análise ambiental de água. Sociedade Mineira de Engenheiros Agrônomos (SMEA). 2005. págs.1-77.
 7. Gault, A.G., Jana, J., Chakraborty, S., Mukherjee, P., Sarkar, M., Nath, B., Polya, D.A., Chatterjee, D.: Preservation strategies for inorganic arsenic species in high iron, low-Eh groundwater from West Bengal, India. *Anal. Bioanal. Chem.* 381 (2005), págs.347-353.
 8. Kim, Y.T., Yoon, H., Yoon, C., Woo, N.C.: An assessment of sampling, preservation, and analytical procedures for arsenic speciation in potentially contaminated waters. *Environ. Geochem. Health* 29 (2007), págs.337-346.
 9. Samanta, G. Clifford, D.A.: Preservation of arsenic species in groundwater. *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005), págs.8877-8882.
 10. Oliveira, V., Sarmiento, A.M., Gomez-Ariza, J.L. Nieto, J.M. Sanchez-Rodas, D.: New preservation method for inorganic arsenic especiation in acid mine drainage samples. *Talanta* 69 (2006), págs. 1182-1189.
 11. Quinaia, S.P., Rollemberg, M.C.: Selective reduction of arsenic species by hydride generation - atomic absorption spectrometry. Part 2 - sample storage and arsenic determination in natural waters. *J. Braz. Chem. Soc.* 12 (2001), págs. 37-41.
 12. Gallagher, P.A., Schwegel, C.A., Wei, X., Creed, J.T.: Speciation and preservation of inorganic arsenic in drinking water sources using EDTA with IC separation and ICP-MS detection. *J. Environ. Monit.* 3 (2001), págs. 371-376.
 13. Bednar, A.J., Garbarino, J.R., Burkhardt, M.R., Ranville, J.F., Wildeman, T.R.: Field and laboratory arsenic speciation methods and their application to natural water analysis. *Water Res.* 38 (2004), págs.355-364.
 14. Bednar A.J., Garbarino, J.R., Ranvie, J.F., Wildeman, T.R.: Preserving the distribution of inorganic arsenic species in groundwater and acid mine drainage samples. *Environ. Sci. Technol.* 36 (2002), págs. 2213-2218.
 15. Daus, B., Mattusch, J., Wennrich, R., Weiss, H.: Investigation on stability and preservation of arsenic species in iron rich water samples. *Talanta* 58 (2002), págs. 57-65.
 16. Daus, B., Weiss, H Mattusch, J., Wennrich, R.: Preservation of arsenic species in water samples using phosphoric acid – limitation and long-term stability. *Talanta* 69 (2006), págs. 430-434.
 17. Egreja, F.B.F.: Extração sequencial de metais pesados em solos altamente intemperizados: utilização de componentes-modelo e planejamentos com misturas ternárias na otimização do método. Tesis de doctorado. UFV (2000), págs. 1-27.
 18. U.S. EPA. 2001. Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual. EPA 823-B-01-002. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC., págs. 4.1-4.16.
 19. Lihareva N.: Arsenic solubility, mobility and speciation in the deposits from a copper production waste storage. *Microchem. J.* 81 (2005), págs.117-183.
 20. Pantuzzo, F.L., Silva, J.C.J, Ciminelli, V.S.T.: A fast and accurate microwaveassisted digestion method for arsenic determination in complex mining residues by flame atomic absorption spectrometry. *J. Haz. Mat.* 169 (2009), págs. 1636-1638.
 21. Romero, L., Alonso, H., Campano, P., Fanfani, L., Cidu, R., Dadea, C., Keegan, T., Thornton, I., Farago, M.: Arsenic enrichment in waters and sediments of the Rio Loa (Second Region, Chile). *Appl. Geochem.* 18 (2003), págs. 1399-1416.
 22. Manual de métodos de análise de solo. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa-CNPs). 2a Ed. Rev. actual. Río de Janeiro (1997), págs. 27-35.
 23. Junior, R.A.M.: Análise de elementos traços em sedimentos de rio provenientes de bacias hidrográficas do Estado de Minas Gerais via espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e abertura de amostras por digestão ácida utilizando forno de radiação microondas. Informe de iniciación científica. UFMG (2008), págs. 1-37.
 24. Manual técnico da área de geoquímica. Ministério de Minas e Energia. Secretaria de Minas e Metalurgia. Serviço geológico do Brasil (CPRM). versão 5.0. <http://intra.cprm.gov.br/prata/manualgeoq.pdf>.
 25. Kingston, H.M., Jassie, L.B. Introduction to Microwave Sample Preparation: Theory and Practice, ACS, Wasshington, DC (1988), pág. 288.

26. Collasiol, A., Pozebon, D., Maia, S.M.: Ultrasound assisted mercury extraction from soil and sediment. *Anal. Chim. Acta* 518 (2004), págs.157-164.
27. Tuzen, M., Sari, H., Soyak, M.: Microwave and wet digestion procedures for atomic absorption spectrometric determination of trace metals contents of sediment samples. *Anal. Letters* 37 (2004), págs. 1925-1936.
28. MLS-1200 MEGA. Microwave digestion system with MDR technology - Operator manual. Milestone, 1994.
29. Melo, L., Arruda, M. A. Z.: Calibração de um forno de microondas. En: Preparo de amostras/ QP 413 (Prática 3). Instituto de Química, Unicamp. 2000.
30. Ivanova, J., Djingova, R., Korhammer, S., Markert, B.: On the microwave digestion of soils and sediments for determination of lanthanides and some toxic and essential elements by inductively coupled plasma source mass spectrometry. *Talanta* 54 (2001), págs. 567-574.
31. Silva, J.C.J., Paiva, D.N.B., Matos, J. M., Ciminelli, V.S.T.: Determinação de elementos-traço em amostras comerciais de água mineral de fontes localizadas em minas gerais por ICP-MS. En: Silva, J.C.J.: *Inovações na linha de pesquisa "Controle e Gestão Ambiental" através do desenvolvimento de métodos para a determinação metais tóxicos por ICP-MS visando a avaliação da contaminação ambiental em áreas minerárias*. Relatório PRODOC-CAPES. Depto. Engenharia Metalúrgica e de Materiais. UFMG. 2008, págs.9-21.
32. Silva, J.C.J., Junior R., Ciminelli, V.S.T.: Determinação de elementos-traços em sedimentos de rio provenientes de bacias hidrográficas do estado de Minas Gerais via espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e abertura de amostras por digestão ácida utilizando forno de radiação microondas. En: Silva, J.C.J.: *Inovações na linha de pesquisa "Controle e Gestão Ambiental" através do desenvolvimento de métodos para a determinação metais tóxicos por ICP-MS visando a avaliação da contaminação ambiental em áreas minerárias*. Informe PRODOC-CAPES. Depto. Engenharia Metalúrgica e de Materiais. UFMG. 2008, págs. 46-63.

Capítulo 3

Métodos espectrofotométricos UV-Vis

MARIA LUISA CASTRO DE ESPARZA, MARTA I. LITTER, MARÍA WONG, VILMA MORI

3.1. CONSIDERACIONES GENERALES DE LA ESPECTROSCOPIA [1-6]

Dentro de los métodos espectrométricos o espectrofotométricos de análisis para identificar y cuantificar elementos presentes en distintos medios, entre ellas aguas destinadas a bebida humana, se encuentra la espectrofotometría ultravioleta – visible (UV-Vis). A continuación haremos una breve introducción sobre los conceptos generales de espectroscopía.

La espectroscopía describe la interacción entre la radiación, principalmente la electromagnética, y la materia. Toda radiación electromagnética viene caracterizada por una longitud de onda (λ), una frecuencia (ν) o una energía (E); la relación existente entre ellas está dada por la ecuación de Planck:

$$E = h\nu = hc/\lambda \tag{3.1}$$

donde:

E = energía transportada por cuanto de radiación o fotón [J fotón⁻¹]

h = constante de Planck ($6,6256 \times 10^{-34}$ J s fotón⁻¹)

c = velocidad de la luz ($2,9979 \times 10^8$ m s⁻¹)

λ = longitud de onda [m]

ν = frecuencia de la radiación [s⁻¹]

En la Figura 3.1 se dan los valores de frecuencia y longitud de onda de las distintas regiones del espectro electromagnético:

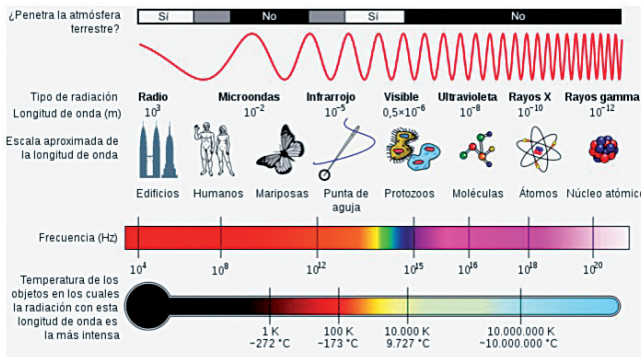


Figura 3.1. Valores de frecuencia y longitud de onda de las distintas regiones del espectro electromagnético.

La radiación electromagnética ocasiona distintos efectos sobre la materia, tal como se indica en la Tabla 3.1:

Tabla 3.1. Efecto de la radiación electromagnética sobre la materia.

Radiación	Efecto
Rayos X y cósmicos	Ionizaciones de las moléculas
UV-Visible	Transiciones electrónicas entre los orbitales atómicos y moleculares
Infrarrojo	Deformación de los enlaces químicos
Microondas	Rotaciones de los enlaces químicos
Radiofrecuencias	Transiciones de espín electrónico o nuclear en los átomos de la molécula

Cuando la radiación incide sobre una sustancia, sólo un átomo o conjunto de átomos son capaces de absorber la radiación; estos grupos se denominan cromóforos y serán distintos dentro de una misma molécula para cada técnica espectroscópica.

Los efectos de la radiación sobre la materia pueden usarse para obtener información sobre la estructura de la misma, y así surgen distintas técnicas espectroscópicas, tal como se indica en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2. Espectroscopías e información que puede obtenerse de cada una.

Técnica espectroscópica	Información obtenida
Rayos X	Estructura total de la molécula incluida la estereoquímica
Ultravioleta-Visible	Existencia de cromóforos y/o conjugación en la molécula
Infrarrojo	Grupos funcionales a partir de las absorciones observadas
Espectrometría de masas	Formula molecular y subestructuras a partir de los iones observados
Resonancia magnética nuclear	Grupos funcionales, subestructuras, conectividades, estereoquímica, etc.

3.2. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA VISIBLE (UV-Vis)

3.2.1. Generalidades

La espectroscopía UV-Vis utiliza la radiación del espectro electromagnético, cuya longitud de onda está comprendida entre los 100 y los 800 nm (energía comprendida entre las 286 y 36 kcal mol⁻¹), y su efecto sobre la materia es producir transiciones electrónicas entre los orbitales atómicos y/o moleculares de la sustancia. En algunos casos, los efectos y la detección pueden llegar al IR cercano (800-900 nm). En la espectroscopía UV-Vis, una especie química (en general una molécula, aunque puede tratarse de una especie monoatómica, un ion o un complejo) absorbe UV-Vis, y la energía adquirida por el sistema causa la transición de un electrón de un estado basal o fundamental (EF) a uno excitado (EE). La energía de la transición está relacionada con la longitud de onda de la radiación a través de la ecuación de Planck (1).

Un gráfico o representación de la respuesta del sistema en función de la longitud de onda o frecuencia se denomina **espectro**. En general, en los espectros UV-Vis, se observa una señal debida a cada transición electrónica del EF al EE. Los átomos dan líneas agudas, mientras que las moléculas poliatómicas dan señales en forma de bandas puesto que la absorción de luz involucra también energía suficiente para causar cambios

en energía vibracional y rotacional de cada uno de sus estados electrónicos en el EE, tal como ocurre cuando se irradia al EF con luz infrarroja (ver Capítulo 11). En este caso, se originan líneas de absorción de diferentes intensidades que no se resuelven, con la aparición de un continuo o banda. Para una sustancia determinada, la longitud de onda a la cual se produce el máximo de absorbancia en el espectro se conoce como $\lambda_{\text{máx}}$.

La señal espectral permite, por un lado, identificar algunos grupos funcionales presentes en las moléculas y, por el otro, estimar la concentración de una sustancia. La **espectrometría** es la técnica espectroscópica usada para evaluar la concentración de una especie y utiliza un instrumento llamado **espectrómetro**. En el caso de la espectrometría que utiliza fotones (UV-Vis, IR), se suele hablar de **espectrofotometría**. Para la medición de la intensidad de absorción se usan espectrofotómetros en los cuales se puede medir la **absorbancia** o la **transmitancia**, como veremos después.

3.2.2. Modos de excitación electrónica

Cuando un fotón UV-Visible de energía adecuada incide sobre una especie absorbente, un electrón es promovido desde el EF al EE. El acto primario de excitación por la luz involucra tres etapas: 1) interacción de la molécula con fotón (UV, visible), 2) fotoexcitación, 3) producción del EE o transición electrónica. La absorción depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia química. Hemos dicho que sólo absorben en el UV-Vis aquellas sustancias que presentan un cromóforo, en el cual se localiza, aproximadamente, la transición electrónica responsable de una determinada banda espectral y que absorbe la luz. Bajo irradiación UV-Vis pueden ocurrir distintas transiciones electrónicas:

Transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$: ocurren a $\lambda < 50$ nm. Este tipo de transiciones se dan sobre todo en hidrocarburos que únicamente poseen enlaces σ C-H o C-C. La energía requerida para que tenga lugar esta transición es relativamente grande, y pertenece a la región espectral denominada ultravioleta de vacío (UVV) (Figura 3.2.).

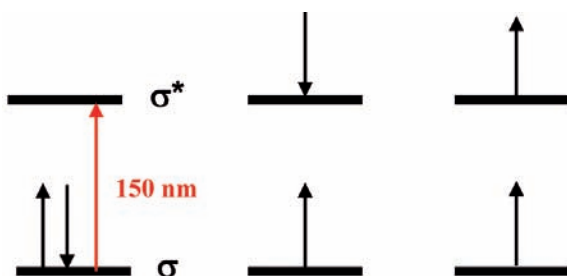


Figura 3.2. Transición $\sigma \rightarrow \sigma^*$

Transiciones $n \rightarrow \sigma^*$: ocurren a λ entre 150-200 nm. Corresponden a compuestos que poseen átomos con pares de electrones no compartidos (electrones de no enlace, como en el caso de O, N, Cl) (Figura 3.3). La energía necesaria para que se produzca esta transición sigue siendo alta (aunque menor que en las $\sigma \rightarrow \sigma^*$), perteneciendo éstas a la región espectral UV lejano.

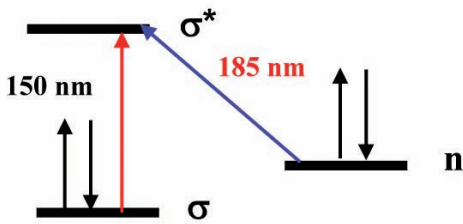


Figura 3.3. Transición $n \rightarrow \sigma^*$

Transiciones $n \rightarrow \pi^*$ y transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$: ocurren a λ entre 200-700 nm. La mayoría de las aplicaciones de la espectroscopía UV-Vis están basadas en transiciones que ocurren en esta zona. Se requiere que las especies participantes aporten un sistema de electrones π (grupos cromóforos: compuestos con insaturaciones, sistemas aromáticos multicíclicos, etc.). Las energías de excitación en las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ son medianamente altas, correspondiendo a las regiones UV lejano y cercano, mientras que las $n \rightarrow \pi^*$ son algo menores (Figura 3.4.).

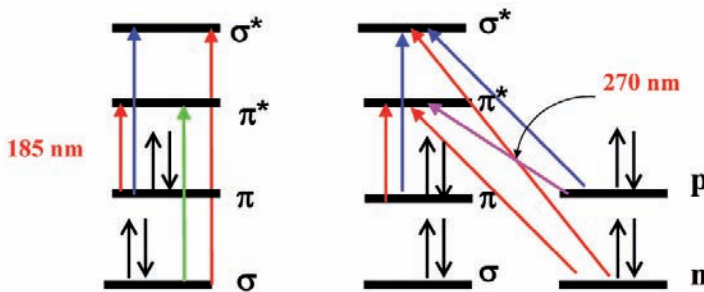


Figura 3.4. Transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$

En la Figura 3.5, se observa un diagrama cualitativo comparativo de las energías de las distintas transiciones electrónicas.

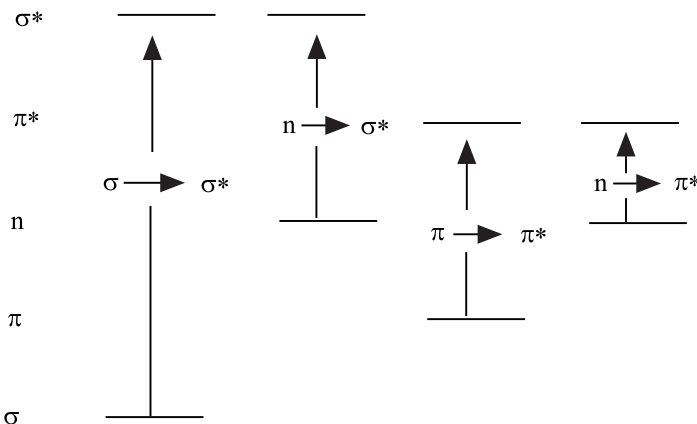


Figura 3.5. Diagrama cualitativo comparativo de las energías de las distintas transiciones electrónicas en una molécula.

En las moléculas existen también átomos o grupos de átomos que no absorben radiación, pero hacen que se modifique alguna de las características de la absorción del cromóforo. La naturaleza del solvente, el pH de la solución, la temperatura, la concentración de electrolitos o la presencia de sustancias interferentes pueden provocar también desplazamientos de las bandas en el espectro UV-Vis. Los efectos son los siguientes:

- Efecto hipsocrómico: corrimiento a λ menores (desplazamiento al azul) por sustitución o cambio en el medio, por ej. el solvente.
- Efecto batocrómico: corrimiento a λ mayores (desplazamiento al rojo).
- Efecto hipercrómico: aumento de la intensidad de una banda espectral por sustituyentes o interacciones con el entorno molecular.
- Efecto hipocrómico: opuesto a hipercrómico.
- Auxocromo: átomo o grupo de un cromóforo que, generalmente por conjugación con un cromóforo, ocasiona un desplazamiento batocrómico y/o un efecto hipercrómico en una banda determinada del mismo, generalmente en la de menor frecuencia. Esta palabra se encuentra en desuso.

Un ejemplo de estos efectos se da cuando en las moléculas existen dobles o triples enlaces π conjugados que absorben energía a longitudes de onda mayores (Figura 3.6). Si existen varios enlaces conjugados, la absorción se desplaza hasta el visible y provoca coloración en las moléculas, como en el caso del β -caroteno.

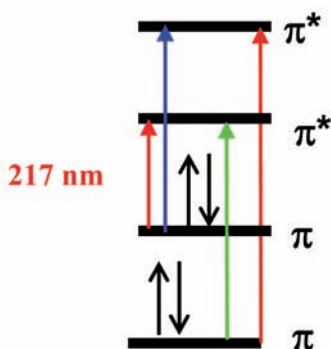


Figura 3.6. Transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ en dienos conjugados.

De acuerdo con los anteriores modos de excitación, se pueden encontrar los siguientes cromóforos simples en la espectroscopía UV-Vis (Tabla 3.3):

Tabla 3.3. Cromóforos involucrados en la espectroscopía UV.

Electrones implicados	Enlace	transición	λ_{\max} (nm)
Electrones σ	C-C, C-H	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	150
	-O-	$n \rightarrow \sigma^*$	185
	-N-	$n \rightarrow \sigma^*$	195
Electrones n	-S-	$n \rightarrow \sigma^*$	195
	C=O	$n \rightarrow \pi^*$	290
	C=O	$n \rightarrow \sigma^*$	190
Electrones π	C=C	$\pi \rightarrow \pi^*$	190

Algunos ejemplos de longitud de onda máxima de absorción se muestran en los ejemplos de la Figura 3.7:

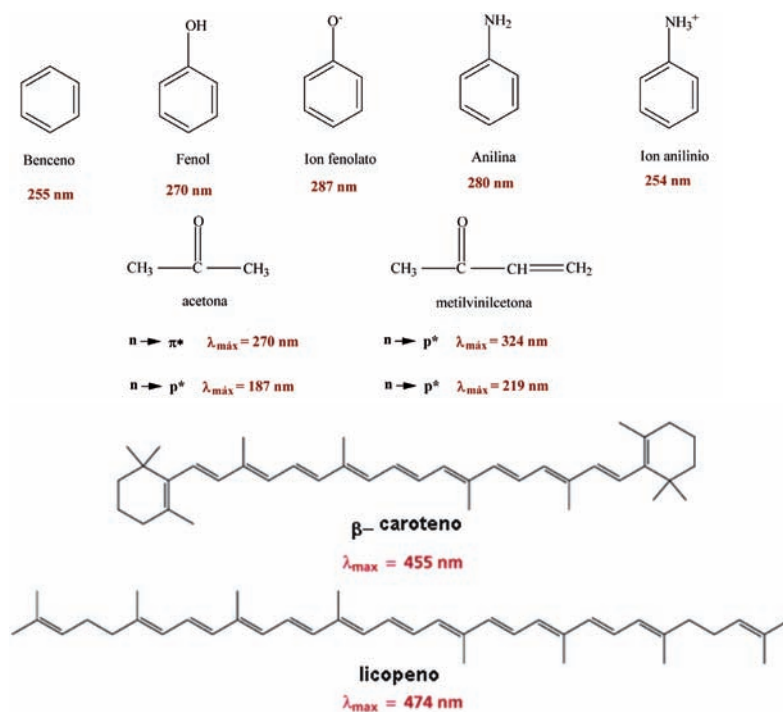


Figura 3.7. Absorción UV-Vis de algunas moléculas orgánicas.

3.3. LEY DE LAMBERT – BEER [2, 7]

La base de la espectrofotometría de absorción UV-Vis y su uso en el análisis cuantitativo están dados por la relación conocida como ley de Lambert – Beer, que establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración del analito en esa solución. Por lo tanto, puede emplearse para determinar la concentración de un compuesto en una solución. La longitud de onda λ de absorción de la luz es específica de cada cromóforo.

Cuando un haz de radiación UV-Vis atraviesa una solución que contiene un analito absorbente, la intensidad (I^*) que atraviesa la muestra es menor que la del haz incidente (I_0). La fracción de radiación que ha traspasado la muestra se denomina transmitancia ($T = I/I_0$). La transmitancia T está relacionada con la absorbancia (A) de acuerdo a la siguiente expresión:

$$A = -\log T = -\log(I/I_0) \quad (3.2)$$

Por aspectos prácticos, para las mediciones se usa la absorbancia (A) en lugar de la transmitancia (T), debido a que, de acuerdo a la ley Lambert – Beer, A está linealmente relacionada con la concentración del analito absorbente a una determinada longitud de onda:

* La IUPAC recomienda que el término I , tradicionalmente usado en forma indiscriminada para flujo fotónico, velocidad de fluencia, irradiancia o potencia radiante se use solamente para descripciones cualitativas (ver Braslavsky, S.E., *Pure Appl. Chem.* 79 (2007), págs. 293–465). Sin embargo, a los fines de este capítulo usaremos este término en la ecuación de Lambert - Beer y sus derivaciones.

$$A = -\log_{10}(I/I_0) = \epsilon cl \quad (3.3)$$

donde:

A: absorbancia medida

I: intensidad de la luz transmitida

I_0 : intensidad de la luz incidente

ϵ : coeficiente de absorción molar*, característico de cada sustancia absorbente a cada longitud de onda

l: longitud del camino óptico (distancia que atraviesa la luz dentro de la muestra)

c: concentración de la sustancia absorbente (mol L^{-1}).

La ley de Lambert-Beer se cumple para valores pequeños del producto ϵcl (0,01 a 0,1). Para cada analito absorbente y longitud de onda λ , ϵ es una constante y es una propiedad molecular fundamental asociada a un solvente dado, a una temperatura y presión particular. La absorbancia A y el coeficiente de absorción ϵ son a veces definidos en términos del logaritmo natural en lugar del logaritmo de base 10. ϵ es una constante relacionada con el área de incidencia del cromóforo y la probabilidad de que se produzca la absorción. Cuando ϵ es inferior a 10000, la absorción se debe a una transición electrónica prohibida por las reglas de selección, tema que no analizaremos aquí pero que se puede consultar en las referencias [2, 3, 5].

El espectrofotómetro UV-Vis registra las longitudes de onda a las cuales se cuantifica y registra la absorción. El espectro se registra como absorbancia (A) vs. longitud de onda (λ).

3.4. APLICACIÓN DE LA ESPECTROMETRÍA UV-VIS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPECIES QUÍMICAS

Para las determinaciones analíticas es solamente necesario disponer de un espectrofotómetro UV-Vis, un equipo accesible y económico para la mayoría de los laboratorios, y con este equipo medir el cambio de la absorbancia de un compuesto a diferentes concentraciones de analito por un método estandarizado para la especie en cuestión. Generalmente, se realiza una curva de calibración de la cual se puede obtener el coeficiente de absorción molar.

La espectrometría UV-Vis se emplea generalmente en la determinación cuantitativa de la concentración en solución de especies químicas como iones metálicos de transición y compuestos orgánicos muy conjugados. Muchas de las determinaciones incluyen un paso de reacción entre la especie y un compuesto que origine un derivado coloreado o absorbente en el UV-Vis (por ejemplo, un complejo o aducto).

En particular, las soluciones de iones metálicos de transición son generalmente coloreadas pues absorben la luz visible debido a la excitación desde un estado electrónico a otro de los electrones de los átomos del metal. El color de las soluciones de iones metálicos puede ser afectado por la presencia de otras especies, como algunos aniones o ligandos. Como se mencionó antes, los compuestos orgánicos, especialmente aquéllos con un alto grado de conjugación, también absorben luz en las regiones visible o ultravioleta del espectro electromagnético, con coeficientes de absorción bastante elevados.

Por lo general, se usa el agua como disolvente para compuestos inorgánicos y etanol para compuestos orgánicos porque este alcohol absorbe muy débilmente a la mayoría de las longitudes de onda. Como ya se ha dicho, la polaridad y el pH pueden afectar también la absorción de un compuesto.

* Los términos extinción, absortividad y densidad óptica son obsoletos.

3.4.1. El espectrofotómetro UV-Vis [2]

El instrumento usado en la espectrofotometría ultravioleta-visible se denomina espectrofotómetro UV-Vis, y permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto con una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia. Se mide la transmitancia de la muestra que se expresa habitualmente como porcentaje (%T), o bien la absorbancia (A).

3.4.1.1. Partes básicas de un espectrofotómetro

El equipo se compone generalmente de una fuente de luz (por lo general una lámpara incandescente (de tungsteno) para las longitudes de onda en el rango visible, o una lámpara de arco de deuterio en el ultravioleta), un soporte para la muestra, una red de difracción o monocromador para separar las diferentes longitudes de onda de la luz, y un detector. El detector suele ser un fotodiodo o un CCD*. Los fotodiodos se usan con monocromadores que filtran la luz, de modo que una sola longitud de onda alcanza el detector. Las redes de difracción se utilizan en conjunto con CCDs, que recogen radiación electromagnética de diferentes longitudes de onda en píxeles.

Un espectrofotómetro puede ser de haz simple o de doble haz. En un instrumento de solo haz (p. ej., Spectronic 20), toda la luz pasa a través de la celda de la muestra. La intensidad incidente I_0 se mide análogamente en ausencia de la muestra. En un instrumento de doble haz, la luz se divide en dos haces antes de llegar a la muestra. Un haz se usa como referencia, y el otro pasa a través de la muestra. Algunos instrumentos de doble haz tienen dos detectores (fotodiodos) y se puede medir simultáneamente tanto el haz de referencia como el de la muestra. En otros instrumentos, los dos haces pasan a través de un bloqueador que impide el paso de uno de los haces. El detector alterna entre la medida del haz de muestra y la del haz de referencia. Las muestras se colocan en una celda transparente (cubeta), que suelen ser rectangulares con un ancho interior de 1 cm ($l = 1$ en la ecuación de la ley de Lambert – Beer). Las mejores cubetas están hechas con cuarzo de alta calidad, aunque son comunes las de vidrio o plástico. El cristal, el vidrio y la mayoría de los plásticos absorben en el UV, lo que limita su utilidad a las longitudes de onda en el visible.

3.4.1.2. Espectrofotómetro convencional

Un espectrofotómetro convencional enfoca la luz policromática de la fuente en un monocromador. Éste tiene como componentes principales una ranura de entrada, un elemento que dispersa la luz en sus longitudes de onda componentes (en general una red de difracción), y una ranura de salida que permite seleccionar la longitud de onda deseada. Esa luz “monocromática” atraviesa la muestra, y llega al detector (Figura 3.8). Las mediciones fotométricas se hacen en base a la relación entre la intensidad de la luz que alcanza al detector cuando está interpuesta la muestra (I) y cuando no lo está (I_0) o cuando está interpuesto un “blanco”.

* Siglas en inglés de *charge-coupled device*: dispositivo de cargas eléctricas interconectadas, circuito integrado que contiene condensadores enlazados o acoplados. Bajo el control de un circuito interno, cada condensador puede transferir su carga eléctrica a uno o a varios de los condensadores que estén a su lado en el circuito impreso. Los detectores CCD, al igual que las células fotovoltaicas, se basan en el efecto fotoeléctrico, es decir, la conversión espontánea de luz recibida por algunos materiales en corriente eléctrica. El número de electrones producido es proporcional a la cantidad de luz recibida y, al final de la exposición, los electrones producidos son transferidos de cada detector individual por una variación cíclica de un potencial eléctrico aplicado sobre bandas de semiconductores horizontales, y aisladas entre sí por una capa de SiO_2 .

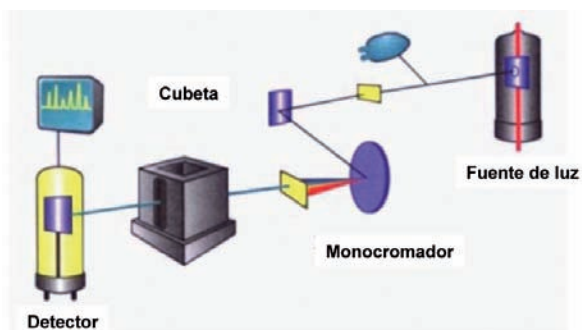


Figura 3.8. Diagrama de un espectrofotómetro UV-Vis.

En realidad, el monocromador no selecciona una única longitud de onda, sino un rango, cuya amplitud depende de la calidad (resolución) del mismo. Esta resolución depende fundamentalmente del diseño (montaje) del monocromador, de su distancia focal, y de las dimensiones y densidad de líneas en la red de difracción.

Para cambiar la longitud de onda de medición, o para hacer un barrido espectral, se mueve el elemento dispersor o algún espejo por medio de un motor por pasos.

3.4.1.3. Espectrofotómetro de arreglo de diodos

El espectrofotómetro de arreglo de diodos (*diode array*) fue introducido a mediados de los años 1970. Utiliza una óptica invertida respecto del convencional: toda la luz de la fuente atraviesa la muestra, y luego es dispersada en un monocromador que, en lugar de una ranura de salida, tiene en el plano focal un dispositivo que integra en un pequeño circuito varios cientos de detectores tipo fotodiodo de silicio. El número de elementos varía actualmente entre 64 y 4096, siendo los más comunes de 512 y 1024 elementos. Cada elemento del arreglo recibe luz de un rango particular de longitudes de onda, y una computadora procesa los datos recibidos. Las principales ventajas del espectrofotómetro de arreglo de fotodiodos son que para obtener un espectro no se necesita mover ningún elemento, y los espectros se obtienen en forma casi instantánea. En la Figura 3.9 se muestra un esquema simple de las partes constituyentes de un espectrofotómetro UV-Vis con detector de arreglo de diodos y en la Figura 3.10, una fotografía de un modelo de equipo usado con frecuencia.

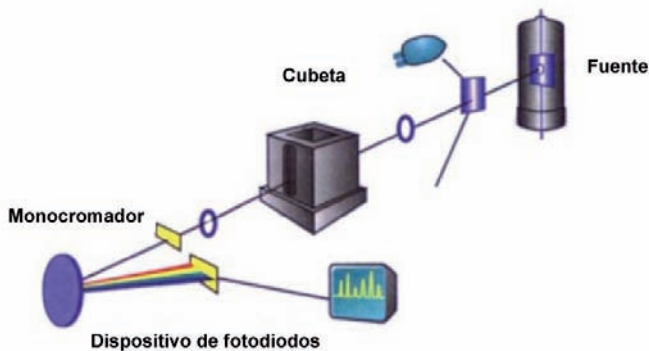


Figura 3.9. Diagrama de un espectrofotómetro UV-Vis con detector de arreglo de diodos.



Figura 3.10. Fotografía de un equipo de espectrofotometría UV-Vis con arreglo de diodos.

3.5. MÉTODOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO EN SOLUCIÓN ACUOSA

La mayoría de los métodos colorimétricos para la medición de arsénico se basan en el antiguo método de Gutzeit [8, 9]. Este método genera gas arsina por reducción de As en condiciones ácidas por adición de polvo de cinc y cuantificación de la arsina por atrapamiento, ya sea en solución de dietilditiocarbamato de plata [10] o en papel impregnado con bromuro de mercurio. Varias intercomparaciones con resultados de laboratorio indicaron un límite de detección efectivo de $1,3 \mu\text{mol As L}^{-1}$ ($100 \mu\text{g As L}^{-1}$) de As para varios *kits* de campo basados en este método [11, 12, 13].

Johnson [14] y Johnson y Pilson [15] propusieron por primera vez una elegante modificación del método estándar basado en el molibdato para la medición de fosfatos en aguas naturales como una alternativa al método de Gutzeit. La clave de la modificación estaba en que el As(V) y el fosfato forman un complejo con molibdato reducido que absorbe fuertemente en el rango IR (880 nm), mientras que el As(III) no lo hace. Se usa yodato de potasio, ácido ascórbico y tartrato de antimonio en el pretratamiento de la muestra y desarrollo del color. El As disuelto puede entonces ser cuantificado a partir de la diferencia en absorbancias entre una alícuota pretratada para oxidar el As(III) (absorbancias debida a P y As) y otra alícuota pretratada para reducir As(V) (absorbancias de P solamente). Para una matriz de agua de mar, Johnson y Pilson [15] mostraron que su método era conveniente, sensible y preciso ($\pm 1,5\%$) a niveles de As tan bajos como $\sim 0,013 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($1 \mu\text{g L}^{-1}$). El método ha sido usado ampliamente por investigadores desde entonces, sin modificación significativa para análisis también en aguas naturales conteniendo $0\text{--}10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de fosfato [16, 17]. La mayoría de estos resultados indican un límite de detección de $\sim 0,26 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($20 \mu\text{g L}^{-1}$). Lenoble y col. [18] ensayaron distintos oxidantes para el pasaje de As(III) a As(V) encontrando que los mejores eran KMnO_4 y NaOCl . Trabajos recientes no publicados indican que este método puede llegar a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ conservando la linealidad de la curva de calibración; se ha optimizado también la concentración de KMnO_4 necesaria para la oxidación [19]. Se ha optimizado la concentración de permanganato. Creemos que el método representa un sencillo y económico procedimiento para la determinación de As en trazas con límites de detección importantes para el agua de bebida humana.

3.6. FUNDAMENTO TEÓRICO DEL MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS EMPLEANDO EL DIETILDITIOCARBAMATO DE PLATA [1, 20]

3.6.1. Generalidades

El método de medición de arsénico en muestras de agua por espectrofotometría UV-Vis empleando el dietilditiocarbamato de plata (AgDDTC), como ya se ha indicado, se fundamenta en la generación de arsina (H_3As) por reducción del As(V) presente en la muestra de agua a As(III) por yoduro de potasio y cloruro de estaño(II) en presencia de cinc y HCl. La arsina se produce por acción del hidrógeno generado por el cinc en el medio ácido y debe pasar por una lana de vidrio impregnada con acetato de plomo para remover el sulfuro de hidrogeno interferente antes de ser absorbida en la solución de AgDDTC.

La arsina producida reacciona con el AgDDTC que se encuentra disuelto en efedrina/ cloroformo o piridina, y forma un complejo coloreado de color rojo vino, cuya intensidad es proporcional a la concentración de arsénico. Esta solución es transferida a la celda de 1 cm y es leída en un espectrofotómetro a 520 nm.

En la Figura 3.11 se observa un esquema del equipo de reacción.

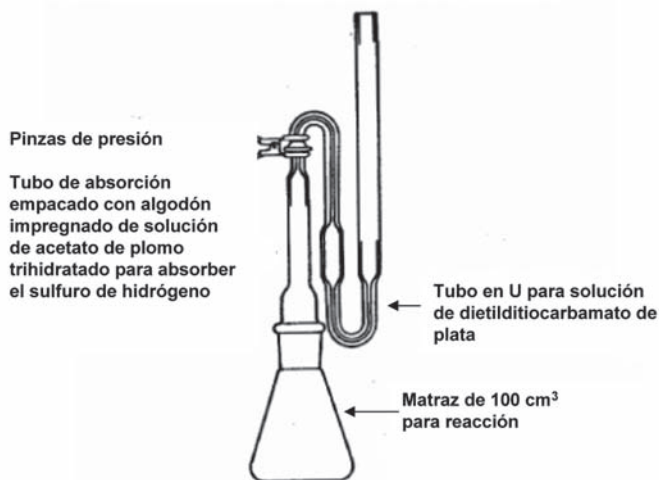


Figura 3.11. Equipo de tratamiento de la muestra y generación del compuesto de color.

3.6.2. Técnica analítica [21]

3.6.2.1. Generalidades de la técnica analítica

Este método es aplicable a la determinación de arsénico en muestras de agua potable, superficial, subterránea y residual. Se puede determinar el arsénico en un rango de 5 a 200 $\mu\text{g As L}^{-1}$ y, por dilución, mayores concentraciones de arsénico. La técnica permite límites de detección en el rango de $\mu\text{g L}^{-1}$ con una instrumentación relativamente sencilla. El límite de detección está entre 1 y 10 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Pueden interferir en la generación de arsina el cromo, cobalto, cobre, mercurio, molibdeno, níquel, platino, plata y selenio en altas concentraciones. Sin embargo, la concentración de estos metales que normalmente se encuentra en el agua no interfiere significativamente.

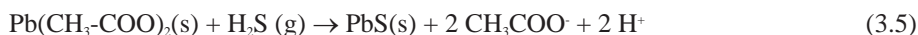
3.6.2.2. *Proceso de la técnica analítica*

El proceso de medición involucra 4 operaciones:

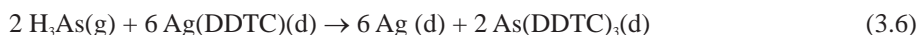
- a) Acondicionamiento de la muestra: Reducción de As(V) a As(III).
- b) Liberación de arsénico en forma de arsina en medio acuoso (ac).



Este paso también incluye el control de interferencias que podría ejercer el sulfuro, interceptando el paso de la arsina con lana de vidrio impregnada en acetato de plomo.



- c) Generación de color



siendo As(DDTC)₃ el complejo de As y DDTC cuya absorbancia se mide, (d) disolución en el solvente orgánico, (s) sólido.

d) Medición instrumental: se siguen las instrucciones señaladas en el Procedimiento Normalizado adjunto.

3.7. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMALIZADO PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO SOLUBLE EN AGUA MEDIANTE EL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTICO UV-VIS DEL DIETILDITIOCARBAMATO DE PLATA [21]*

SECCIÓN A. PROCEDIMIENTO

3.7.1. Aplicación

3.7.1.1. Este método es aplicable a la determinación de arsénico en muestras de agua potable, superficial, subterránea y residual.

3.7.1.2. El límite de detección de este método es 0,005 mg As L⁻¹.

3.7.1.3. Mediante este método se puede determinar el arsénico en un rango de 0,005 a 0,200 mg As L⁻¹, y por dilución mayores concentraciones de arsénico.

3.7.1.4. Este Procedimiento está basado en el descrito en la Ref. [1].

3.7.2. Resumen del método [21]

El arsénico inorgánico se reduce a arsina, AsH₃, utilizando cinc en solución ácida como reductor.



La arsina es absorbida por una solución de dietilditiocarbamato de plata en piridina. La sal de plata reacciona con la arsina y se produce un complejo rojo con absorción máxima alrededor de 520 nm, de acuerdo a la ecuación (3.1).

* Un procedimiento similar puede proponerse para otros métodos espectrofotométricos, como los indicados en la sección 3.2.

3.7.3. Precauciones de seguridad

3.7.3.1. Se requieren guantes quirúrgicos, mandiles, anteojos de protección y máscaras con filtro para solventes orgánicos.

3.7.3.2. La manipulación de ácidos concentrados y solventes debe realizarse bajo una campana extractora de gases, y se debe evitar la inhalación, ingestión y el contacto con la piel.

3.7.3.3. Cada reactivo debe ser considerado como un peligro potencial a la salud, y la exposición a estos compuestos debe ser minimizada por buenas prácticas de laboratorio.

3.7.3.4. El sellado del tapón de goma del tubo generador de arsina y el Erlenmeyer debe ser herméticos; se deben proteger las manos con guantes gruesos al efectuar el acople.

3.7.3.5. La manipulación del algodón saturado con acetato de plomo debe realizarse con guantes y máscara con filtro, y se debe evitar la inhalación y el contacto con la piel.

3.7.3.6. Se deben lavar escrupulosamente las manos después de manipular soluciones de arsénico.

3.7.4. Precauciones de operación

3.7.4.1. La solución madre de arsénico estándar certificado, disponible comercialmente, debe usarse dentro de su tiempo de vigencia. Las soluciones estándar de 100 mg As L⁻¹, 10,00 mg As L⁻¹ y 1,00 mg As L⁻¹ se preparan cada dos meses. Los estándares de la calibración se preparan el día del análisis.

3.7.4.2. Las soluciones de dietilditiocarbamato de plata se deben conservar en frascos ámbar, en la oscuridad.

3.7.4.3. El cloruro estannoso se disuelve en ácido clorhídrico concentrado, se calienta suavemente y se agita con una varilla hasta completa disolución. Se enfría y se enrasa a volumen.

3.7.4.4. El algodón hidrofílico se empapa con solución saturada de acetato de plomo; se deja secar en la estufa de tratamiento de sólidos a 40-45 °C durante 4 horas.

3.7.4.5. Se debe verificar que la celda de 1 cm esté limpia y no presente rayaduras e imperfecciones.

3.7.4.6. Se debe repetir la calibración cuando se renueven los reactivos.

3.7.4.7. El sellado del Erlenmeyer con el tapón del generador de arsina debe ser hermético y realizado inmediatamente después de haber agregado las granallas de cinc, debido a que la reacción que se genera es inmediata.

3.7.4.8. El generador de arsina y las pipetas a usarse con el reactivo de dietilditiocarbamato de plata deben estar completamente limpios y secos.

3.7.4.9. Lavado del material de trabajo

Los frascos utilizados para el almacenamiento de las muestras pueden ser de vidrio borosilicato o polietileno y deben ser lavados y enjuagados de la siguiente manera:

- Se enjuagan con agua de grifo, inmediatamente después de que se los ha usado en el análisis de metales.

- Se separa el material de vidrio que presente roturas o rajaduras. Este material se debe depositar en los contenedores para material de vidrio en desuso.

- Se remueven las etiquetas y los grabados utilizando alcohol industrial y una esponja.

- Se enjuaga con abundante agua de grifo.

- Se lava con una escobilla de tamaño y forma adecuada, fregando por dentro del material de vidrio con solución de detergente especial (Extrán neutro Merck o similar) para limpieza de material de vidrio.

- Se enjuaga con abundante agua de grifo para remover los residuos de detergente.
- Se colocan los frascos en una solución de ácido nítrico 1:3. Es aconsejable dejar los frascos en el baño de ácido durante 8 horas como mínimo.
- Se enjuaga con abundante agua de grifo.
- Se enjuaga con pequeñas porciones de agua destilada por tres veces.
- Se enjuaga con agua ultrapura.
- Se deja escurrir.
- Se secan en estufa a 50°C por una hora los materiales de boca ancha y durante tres horas los materiales de boca angosta.

En general, la vidriería utilizada en el análisis de trazas de metales (frascos para almacenar reactivos, frascos Erlenmeyer, pipetas, probetas y otros) debe seguir el mismo procedimiento de limpieza, y se aconseja que este material sólo se utilice en los análisis de arsénico. Todo el material debe ser lavado antes de su uso y, una vez limpio, no debe ser destapado y expuesto al ambiente, a excepción de lo estrictamente necesario.

3.7.5. Interferencias

Cromo, cobalto, cobre, mercurio, molibdeno, níquel, platino y plata son interferentes en la generación de arsina. La concentración de estos metales que normalmente se encuentra en el agua no interfiere significativamente.

3.7.6. Instrumental/ materiales [21]

Nota: Las marcas y modelos de instrumentos son referenciales y el procedimiento puede ser aplicado con equipos similares. Se deben tomar las marcas los modelos sólo como ejemplo.

- Espectrofotómetro Hewlett Packard UV-Visible modelo 8452 A con arreglo de diodos.
- Balanza analítica con precisión al 0,1 mg (Sartorius BP221S).
- Frascos Erlenmeyer de 300 mL.
- Probetas de 50,0 mL.
- Pipetas volumétricas clase A de 1, 2, 3, 5 y 10 mL.
- Pipetas graduadas de 10 mL.
- Frascos volumétricos de 50, 100 y 1000 mL.
- Frascos de plástico de 250 mL con tapa.

3.7.7. Reactivos [21]

Nota: Se deben utilizar reactivos de grado analítico o superior y que cumplan las normas internacionales de calidad (ACS, ISO).

Nota: Todos los reactivos se deben almacenar en recipientes adecuados, provistos de etiquetas indicando el nombre del reactivo, fecha de preparación, tiempo de duración del reactivo e iniciales del analista.

3.7.7.1. Agua ultrapura grado reactivo tipo I según especificación del Standard Methods [1].

3.7.7.2. Ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado (95 – 97%), p.a.

3.7.7.3. Ácido nítrico (HNO_3) concentrado (65%), p.a.

3.7.7.4. Ácido clorhídrico (HCl) concentrado (37%), p.a.

3.7.7.5. Solución de yoduro de potasio. Se disuelven 15,0 g de KI con agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 100 mL. Se conserva en frasco ámbar.

3.7.7.6. Solución de cloruro estannoso. Se disuelven 40,0 g de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ libre de

arsénico en 10,0 mL de ácido clorhídrico concentrado y se llevan a 100 mL con agua ultrapura.

3.7.7.7. Solución saturada de acetato de plomo. Se disuelven 30,0 g de $(\text{CH}_3\text{COOH})_2\text{Pb}$ con agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 100 mL.

3.7.7.8. Algodón con solución saturada de acetato de plomo. Se empapan 200 g de algodón hidrofílico con solución saturada de acetato de plomo, y se deja secar en la estufa de tratamiento de sólidos a 40-45 °C durante 4 horas. Se guarda en frasco de boca ancha.

3.7.7.9. Reactivo de dietilditiocarbamato de plata. Disolver 0,5 g de $\text{AgSCSN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ en piridina hasta alcanzar un volumen de 100 mL. Se conserva en frasco volumétrico ámbar.

3.7.7.10. Cinc granular (tamaño de granalla 5-8 mm). Se pesan 3,0 g por cada muestra (aproximadamente 6 a 7 granallas).

3.7.7.11. Solución madre 1,0 g As L^{-1} . Solución estándar de As (estándar certificado disponible comercialmente). Si se usa trióxido de arsénico se pesan 1,320 g de trióxido de arsénico As_2O_3 , se diluye en 10 mL de agua ultrapura que contiene 4,0 g de NaOH, y se diluye con agua ultrapura hasta 1000 mL. 1,0 mL = 1000 μg As.

3.7.7.12. Solución estándar 100 mg As L^{-1} . Se diluye 10,0 mL de solución madre 1,0 g As L^{-1} con agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 100 mL. 1,0 mL = 100,0 μg As.

3.7.7.13. Solución estándar 10,0 mg As L^{-1} . Se diluye 10,0 mL de solución estándar 100 mg As L^{-1} con agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 100 mL. 1,0 mL = 10,0 μg As.

3.7.7.14. Solución estándar 1,0 mg As L^{-1} . Se diluye 10,0 mL de solución estándar 10,0 mg As L^{-1} con agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 100 mL. 1,0 mL = 1 μg As.

3.7.8. Calibración del instrumento [20]

Nota: El instrumento se calibra de acuerdo a las instrucciones del fabricante. A continuación se indican las instrucciones para el equipo señalado en el punto 3.4.6.

Para el manejo del espectrofotómetro UV-visible, consúltese el manual de operación del equipo.

3.7.8.1. Se enciende el espectrofotómetro UV-Vis.

3.7.8.2. Se enciende la computadora.

3.7.8.3. Se ingresa al icono *Instrument 1 on line*.

3.7.8.4. Se ingresa el nombre del analista.

3.7.8.5. Dentro del icono *Task* entrar a la opción *Spectrum/Peaks*.

3.7.8.6. Dentro del ícono *Setup*, activar en la ventana *Spectrum/Peaks Parameters*

- *Find and anotate up to 3 peaks*

- *Find and anotate up to 3 valleys*

- *Data type: Absorbance*

- *Display spectrum: 400-700 nm.*

3.7.8.7. Dentro del ícono *Sampling* entrar a la opción *Manual* y en el ícono *Setup* registrar para el *Length*: 1 cm.

3.7.8.8. Se coloca la celda de 1 cm de paso con el blanco de reactivos, se presiona la opción *Blank*; el equipo muestra el espectro libre de interferencias.

3.7.8.9. Se coloca la celda con el estándar de arsénico, se presiona la opción *Sample*; el equipo muestra el espectro para el estándar donde se determina la longitud de onda de máxima absorbancia que debe estar cercano a 520 nm.

3.7.8.10. Dentro del ícono *Task* entrar a la opción *Quantification*

3.7.8.11. Se ingresa a la opción *Setup* y se introducen los siguientes datos:

a) Longitud de onda (λ): determinado en el apartado 3.4.8.10.

- b) Nombre del analito: ARSÉNICO.
- c) Tipo de curva de calibración: Lineal.
- d) Reporte de datos: Concentración.
- e) Unidad de concentración: μg .
- f) Tipo de datos: Absorbancia.
- g) *Display spectrum*: de 400 a 700 nm.

3.7.9. Calibración del método [21, 22]

3.7.9.1. Los estándares de arsénico se preparan añadiendo con pipeta volumétrica a un frasco Erlenmeyer de 300 mL los volúmenes de la solución estándar $1,0 \text{ mg As L}^{-1}$ que se indican en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1. Volúmenes de la solución estándar de $1,0 \text{ mg As L}^{-1}$

Volumen a adicionar (mL)	Concentración de As (μg)	Concentración de As (mg L^{-1})
0,0	0,0	0,000
1,0	1,0	0,020
2,0	2,0	0,040
3,0	3,0	0,060
5,0	5,0	0,100
10,0	10,0	0,200

3.7.9.2. Se diluye cada solución estándar con agua ultrapura hasta un volumen de 50,0 mL.

3.7.9.3. Inmediatamente, y en campana extractora de gases, se añaden 10,0 mL de ácido nítrico concentrado y 5,0 mL de ácido sulfúrico concentrado a cada solución estándar.

3.7.9.4. Se colocan los frascos Erlenmeyer con las soluciones estándar en la plancha caliente y se realiza una digestión lenta hasta eliminación de vapores nitrosos pardos. Se prosigue la digestión por media hora.

3.7.9.5. Se dejan enfriar los frascos Erlenmeyer, se agregan 20,0 mL de agua ultrapura a cada uno, enjuagando las paredes del Erlenmeyer y 20,0 mL de ácido clorhídrico concentrado. Se mezcla.

3.7.9.6. Se agregan 2,0 mL de solución de KI, se mezcla y se deja reposar cinco minutos.

3.7.9.7. Se agrega 1,0 mL de solución de SnCl_2 , se mezcla y se deja reposar 10 minutos.

3.7.9.8. Se colocan 3,0 mL del reactivo dietilditiocarbamato de plata en cada generador de arsina, así como un tapón suave de algodón con acetato de plomo en la burbuja del generador.

3.7.9.9. Se agregan 3,0 g de cinc granular a cada Erlenmeyer, se tapa inmediatamente con el tapón que contiene el generador y se sella con agua para poder detectar alguna fuga de gas.

3.7.9.10. Se deja 30 minutos para un desprendimiento completo de la arsina y la formación del complejo dentro de la campana de extracción.

3.7.9.11. Se vierte la solución directamente desde el generador a la celda de 1,0 cm.

3.7.9.12. Curva de calibración. Dentro del ícono *Task* entrar a la opción *Quantification/standards*.

3.7.9.13. Se coloca la celda con el blanco de reactivos, se presiona la opción *Blank*; el equipo muestra el espectro libre de interferencias.

3.7.9.14. Se realizan las lecturas de cada estándar con la opción *Standard*.

3.7.9.15. Se observa la linealidad de la curva de calibración en la pantalla mediante el

valor del factor de correlación r , el cual debe ser mayor o igual a 0,995. Si el valor es menor, repetir la curva de calibración; de mantenerse el problema, suspender el análisis y revisar los estándares de calibración.

3.7.9.16. Verificar la linealidad de la curva de calibración con dos estándares de control, uno de nivel alto y otro de nivel bajo del rango de calibración.

3.7.9.17. Se guarda la curva en save method con el nombre de Arsénico.

3.7.10. Muestreo y preservación

3.7.10.1. Debido a la elevada sensibilidad del método analítico, se debe evitar la contaminación externa. Los frascos de muestras, conservadores y material de plástico deben estar libres de arsénico.

3.7.10.2. Para la determinación de arsénico en agua, las muestras se preservan con ácido nítrico hasta $\text{pH} < 2$. Se añade 1,0 mL de ácido nítrico por litro de muestra. Se almacena a una temperatura de 4 °C, por un período no mayor a seis meses.

3.7.10.3. Para la determinación de metales disueltos, la muestra debe ser filtrada a través de un filtro de membrana de 0,45 μm de porosidad tan pronto como sea posible después de su recolección. Se acidifica el filtrado con ácido nítrico diluido 1+1 hasta $\text{pH} < 2$.

3.7.10.4. Procedimiento de análisis. En un frasco Erlenmeyer de 300 mL se toma un volumen de 50,0 mL de agua ultrapura como blanco de reactivos.

3.7.10.5. Se agita vigorosamente la muestra y se toman 50,0 mL o un volumen adecuado en una probeta graduada que contendrá una cantidad de arsénico que se encuentre dentro del rango de la curva de calibración y se transfiere a un frasco Erlenmeyer de 300 mL.

3.7.10.6. Si se toma un volumen menor, se diluye la muestra con agua ultrapura a un volumen total de 50,0 mL.

3.7.10.7. Inmediatamente, y en campana extractora de gases, se añaden 10,0 mL de ácido nítrico concentrado y 5,0 mL de ácido sulfúrico concentrado a cada muestra y blanco de reactivos.

3.7.10.8. Se colocan los frascos Erlenmeyer con las soluciones en la plancha caliente y se hace una digestión lenta hasta la eliminación de vapores nitrosos. Se prosigue la digestión por media hora.

3.7.10.9. Se dejan enfriar los frascos Erlenmeyer, se agregan 20,0 mL de agua ultrapura a cada uno, enjuagando las paredes del Erlenmeyer y 20,0 mL de ácido clorhídrico concentrado. Se mezcla.

3.7.10.10. Se agregan 2,0 mL de solución de KI, se mezcla y se deja reposar cinco minutos.

3.7.10.11. Se agrega 1,0 mL de solución de SnCl_2 , se mezcla y se deja reposar 10 minutos.

3.7.10.12. Se colocan 3,0 mL del reactivo dietilditiocarbamato de plata en cada generador de arsina, así como un tapón suave de algodón con acetato de plomo en la burbuja del generador.

3.7.10.13. Se agregan 3,0 g de granallas de cinc a cada Erlenmeyer, se tapa inmediatamente con el tapón que contiene el generador de arsina y se sella con agua para poder detectar alguna fuga de gas.

3.7.10.14. Se deja 30 minutos para un desprendimiento completo de la arsina y la formación del complejo coloreado.

3.7.10.15. Se vierte el complejo directamente desde el generador a la celda de 1,0 cm.

3.7.10.16. Se ingresa a la opción *Load Method* y se llama a la curva de arsénico. Se lee el blanco de reactivos en la opción *Blank* y luego las muestras en la opción *Samples*. Se imprimen los resultados.

3.7.11. Análisis de datos

El contenido de arsénico total en la muestra se calcula de la siguiente manera:

$$C = \frac{W_{As}}{V_m} \quad (3.8)$$

donde:

C = concentración de arsénico en la muestra.

W_{As} = cantidad de arsénico obtenida de la curva de calibración en μg .

V_m = volumen de la muestra en mL.

El resultado se debe reportar en $\text{mg As L}^{-1} \pm I$, donde I es la incertidumbre del resultado obtenido (ver sección 3.7.20).

3.7.12. Registros

Se generan los siguientes registros, que se guardan en el lugar apropiado de acuerdo a lo establecido en el manual de gestión de la calidad:

3.7.12.1. Cuaderno de toma de muestras: es un registro de las muestras para análisis de arsénico donde se consigna el nombre del analista, fecha de análisis, el método que se aplica, la identificación de la muestra, acompañado de su control de calidad, alícuota tomada sea en peso o volumen y volumen final a la que se lleva.

3.7.12.2. Formato de preparación de reactivos: donde se registra la fecha de preparación, reactivo preparado, volumen de la solución preparada, marca y lote del reactivo, tiempo de duración máxima, nombre del analista que preparó.

3.7.12.3. Formato de preparación de estándares de calibración y control: se registra fecha de preparación, volumen preparado, nombre del analista que preparó las soluciones, marca y lote del estándar. El frasco de almacenamiento tiene una etiqueta donde se indica estándar preparado o estándar control, fecha de preparación, iniciales del analista, la concentración de cada analito, preservación, tiempo de duración máxima.

3.7.12.4. Cuaderno de mantenimiento de los equipos: donde se señalan los problemas en el equipo, para el mantenimiento preventivo y correctivo del mismo.

3.7.12.5. Cuaderno de disposición de muestras y extractos: se registra fecha de ingreso, lote, fecha de eliminación, nombre del responsable de las muestras y extractos en custodia.

3.7.12.6. Cuaderno de no conformidades: se registran la fecha y nombre del responsable, la identificación del problema, causas del problema y las acciones correctivas o preventivas del mismo.

3.7.12.7. Resultados análisis de arsénico *AAWinLab*: donde se archiva la copia impresa de los resultados del programa *AAWinLab*.

3.7.12.8. Resultado análisis de arsénico: donde se archivan los resultados finales.

3.7.12.9. Cartas de control trazas de arsénico: se archivan las cartas de control mensual de los metales.

3.7.13. Límite de detección

El límite de detección del método (LDM) es $0,005 \text{ mg As L}^{-1}$ y se calcula de acuerdo al procedimiento establecido por el laboratorio.

SECCIÓN B. CONTROL DE CALIDAD [22]

3.7.14. Control de la exactitud

Para comprobar la exactitud del análisis se puede usar una muestra de control de la EPA (*Environmental Protection Agency* de EE.UU.) u organismo similar o una muestra de control interno preparada por el laboratorio u otro material de referencia. Se manipula el contenido de la ampolla según las instrucciones y se analiza como se describe en la Sección de procedimiento. Se compara el resultado con su valor de referencia y límites de aceptación. Los resultados obtenidos deben estar dentro de los límites de control establecidos. Cuando el resultado no se encuentre dentro del rango de los límites, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis. Los límites de control se verifican anualmente o si se realizan modificaciones en el método. La muestra de control se analiza cada 15 días.

3.7.15. Control de la precisión

En el caso del análisis de una serie de muestras, se debe realizar un duplicado después de cada 10 muestras. El porcentaje de la desviación promedio relativa (RPD) no debe ser mayor del 10%. Sólo para los duplicados cuyas concentraciones se encuentren en el orden de 1 y 5 veces el límite de detección del método (LDM), el porcentaje RPD puede ser menor o igual a 20%.

$$\text{RPD} = \frac{C_1 - C_{1-d}}{(C_1 + C_{1-d})/2} * 100 \quad (3.9)$$

donde:

RPD: desviación promedio relativa

C_1 : concentración de la muestra

C_{1-d} : concentración de la muestra duplicada

De no cumplirse esta regla se debe repetir el análisis de la muestra y su duplicado. En caso contrario, se debe repetir el lote de muestras analizadas.

3.7.16. Adición estándar

En cada lote de muestras se analiza una muestra por duplicado, al duplicado se le agregan 2 mL de solución estándar de arsénico 1 mg L⁻¹. El porcentaje de recuperación del estándar debe estar entre el 90 y el 110%. De no cumplirse esta regla, se debe repetir el análisis de la muestra y su duplicado con la adición. En caso de que no se logre la recuperación esperada, se debe repetir el lote de muestras analizadas.

3.7.17. Control de blancos

En cada lote de muestras se analiza un blanco de trabajo. Los blancos analíticos deben estar preparados con agua ultrapura en cada lote de muestra y tratados de la misma forma que las muestras para identificar posibles fuentes de contaminación (blanco de reactivos del método). El resultado obtenido debe ser menor que el límite de detección del método (LDM). Si es necesario realizar acciones correctivas, éstas deben estar documentadas.

3.7.18. Estándares de verificación

La curva de calibración se verifica con 2 estándares de 0,080 y 0,160 mg As L⁻¹ con cada lote de muestras. Los estándares de verificación se preparan a partir de una solución madre diferente a la utilizada para la preparación de la curva de calibración. El valor obtenido no debe diferir de ± 10% del valor del estándar. En caso contrario preparar una nueva curva de calibración. Si es necesario realizar acciones correctivas, éstas deben estar documentadas.

3.7.19. Cartas de control

Se deben mantener al día las cartas de control para los blancos, las muestras duplicadas y los estándares de verificación. Calcular los límites de control y advertencia y construir la carta de control. Inmediatamente después de analizar las muestras control, graficar el valor en la carta de control. Se debe tomar una acción correctiva en los siguientes casos:

- Si el valor determinado está fuera de los límites de control, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis.
- Si 2 de 3 valores determinados sucesivamente están fuera de los límites de advertencia, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis.
- Si 7 de 8 valores determinados sucesivamente se encuentran al mismo lado de la línea promedio, se debe revisar el procedimiento.

3.7.20. Incertidumbre [23, 24]

Se expresa la incertidumbre expandida del resultado analítico mediante la siguiente ecuación:

$$I = \frac{K * Sd_{ci}}{\sqrt{n}} \quad (3.10)$$

$$Sd_{ci} = \sqrt{Sd_{ad}^2 + Sd_{mc}^2 + Sd_{dup}^2} \quad (3.11)$$

donde:

I = incertidumbre del resultado analítico

K = distribución t de Student de 2 colas para (n-1) grados de libertad con un intervalo de confianza de 95% (si n ≥ 30, k = 2)

Sd_{ci} = incertidumbre estándar combinada para un nivel i

Sd_{mc} = desviación estándar de muestra de control para un nivel i

Sd_{ad} = desviación estándar de muestra de fortificada para un nivel i

Sd_{dup} = desviación estándar de muestras duplicadas para un nivel i

Nota: ver definiciones y cálculos de Sd_{mc}, Sd_{ad} y Sd_{dup} en el procedimiento de operación de evaluación de incertidumbre de la medición.

Reporte la concentración de la muestra como C ± I.

REFERENCIAS

1. American Public Health Association: *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20th. Edition. 2002.
2. Wayne, R.P.: *Principles and applications of photochemistry*. Oxford, Inglaterra, 1991.
3. Braun, A.M., Maurette, M.T., Oliveros, E., *Technologie Photochimique*, Presses Polytechniques Romandes, Lausana, Suiza, 1986.

4. Calvert, J.G., Pitts, J.N., Photochemistry, J. Wiley and Sons, New York-London-Sydney, 1967.
5. Turro, N.J.: Modern Molecular Photochemistry, The Benjamin Cummings Publish., Menlo Park, CA, EE. UU., 1978.
6. Jentoft F.C.: *Diffuse Reflectance IR and UV-vis Spectroscopy*, Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft, Berlín, Alemania, 2004.
7. Pérez, M.F., Prieto, G.F., Barrado E.E., Rojas H.A., Méndez, M.M., Optimización del método de determinación de arsénico en aguas potables por espectrofotometría UV-Vis del dimetilditiocarbamato de plata. *Revista de la Sociedad Química de México*. 46 (2002), págs. 175-179.
8. Gutzeit H., *Pharm. Zeitung* 36 (1891), págs. 748–756.
9. Jacobs, M.B., Nagler, J., *Ind. Eng. Chem.* 14 (1942), 442.
10. Rowe, J.J., Fournier, R.O., Morey, G.W.: *Geol. Surv. Bull. (U.S.)* (1973), 1300.
11. Portman, J.E., Riley, J.P., Determination of arsenic in seawater, marine plants and silicate and carbonate sediments. *Anal Chim Acta* 31 (1964), págs. 509–19.
12. Rahman, M.M., Mukherjee, D., Sengupta, M.K., Chowdhury, U.K., Lodh, D., Chanda, C.R., Roy, S., Selim, M., Quamruzzaman, Q., Milton, A.H., Shahidullah, S.M., Rahman, M.T., Chakraborti, D.: Effectiveness and reliability of arsenic field kits: Are the million dollar screening projects effective or not?, *Environ. Sci. Technol.* 36 (2002), págs. 5385–5394.
13. Kinniburg, D.G., Kosmus, W.: Arsenic contamination in groundwater: Some analytical considerations. *Talanta* 58 (2002), págs. 165–180.
14. Johnson, D.L., Simultaneous determination of arsenate and phosphate in natural waters. *Environ. Sci. Technol.* 5 (1971), págs. 411–414.
15. Johnson, D.L., Pilon, M.E.Q.: Spectrophotometric determination of arsenite, arsenate and phosphate in natural waters, *Anal. Chim. Acta* 58 (1972), págs. 289–299.
16. Haywood, M.G., Riley, J.P., The spectrophotometric determination of arsenic in sea water, potable water and effluents, *Anal. Chim. Acta* 85 (1976), págs. 219–230.
17. R.E. Stauffer, *Anal. Chem.* 55 (1983), págs. 1205–1210.
18. Lenoble, V., Delachat, V., Serpaud, B., Bollinger, J.: Arsenite oxidation and arsenate determination by the molybdene blue method. *Talanta* 61 (2003), págs. 267–276.
19. Levy, I.K., Morgada, M.E., Litter M.I., resultados no publicados.
20. Hewlett Packard, 1986. UV/VIS operating software and handbook for the HP 8452A Diode Array Spectrophotometer. Publication No. 08452-90001. Julio 1986
21. CEPIS, 2004. Procedimiento Normalizado de Operación para la Determinación de Arsénico por el método Dietilditiocarbamato de plata.
22. CEPIS, 1999. Manual de control de calidad analítica. Lima; CEPIS.
23. CEPIS, 2004. Procedimiento de operación de la evaluación de la incertidumbre de la medición en ensayos ambientales, 2004.
24. CAEAL, 2003. Policy on the estimation of Uncertainty of measurement in Environmental testing. P19.

Capítulo 4

Determinación de arsénico por el método: absorción atómica-generación de hidruros-FIAS

MARÍA AURORA ARMIENTA, MARÍA L. CASTRO DE ESPARZA, CLARA M. LÓPEZ, ADRIANA E. PIÑEIRO, ADRIANA H. SASSONE

4.1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

La espectroscopía de absorción atómica mide la cantidad de luz que es absorbida por los átomos del analito a la longitud de onda resonante.

Absorbancia

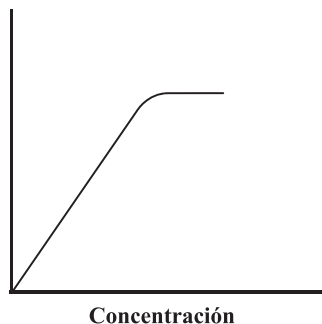


Figura 4.1. Gráfico de variación de la absorbancia en función de la concentración de analito.

La luz que se absorbe sigue la ley de Lambert-Beer de acuerdo con las siguientes ecuaciones simplificadas:

$$T = I/I_0 \quad (4.1) \quad \%A = 100 - \%T \quad (4.2)$$

$$A = \log(I_0/I) \quad (4.3) \quad A = \epsilon cl \quad (4.4)$$

donde T = transmitancia, I = intensidad de la luz después de atravesar la solución conteniendo el analito, I_0 = intensidad de luz incidente, A = absorbancia, l = longitud de paso óptico (cm), c = concentración del analito (mol L^{-1}), ϵ = coeficiente de absorción molar ($\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

La luz incidente (de las longitudes de onda específicas a las cuales absorben los átomos del analito) es emitida por una lámpara de cátodo hueco o de descarga sin electrodo y es absorbida por la solución que es interceptada por la luz. A continuación, damos algunas características de las lámparas usadas normalmente.

- Lámpara de cátodo hueco: la fuente de luz se llena con un gas inerte como Ne o Ar a baja presión (10-15 torr), el cual es ionizado en el ánodo. Los iones de Ne cargados positivamente son atraídos por las cargas negativas del cátodo, que está formado por el elemento de interés y, al chocar con el mismo, expulsan a los átomos y los excitan. Al regresar los átomos a su estado basal, producen el espectro de emisión del elemento a analizar.

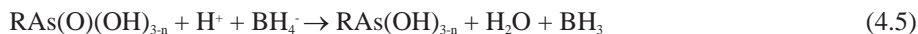
- Lámpara de descarga sin electrodo: produce las líneas espectrales por excitación de radiofrecuencia del gas inerte que ioniza al metal. Este tipo de lámparas se usa para compuestos más volátiles o materiales no conductores. La intensidad de la luz emitida es 10 a 100 veces mayor que la lámpara de cátodo hueco, pero menos estable.

El uso de estas lámparas disminuye los límites de detección del As [1].

4.2. GENERACIÓN DE HIDRUROS

La técnica de absorción atómica con generación de hidruros permite cuantificar en el orden de ppb o ultratrazas elementos como As, Se, Hg, Sn, Sb, Ge, Bi y Te, que tienen la propiedad de formar el hidruro correspondiente.

La muestra disuelta en ácido diluido se mezcla con un agente reductor, tal como una solución de cinc y ácido clorhídrico, cloruro de estaño (SnCl_2) o borohidruro de sodio (NaBH_4). Esta reacción produce H atómico que reacciona con el As, Se, Hg, Sn, Pb, Sb, Ge, Bi y Te en la solución para formar hidruros volátiles. El borohidruro de sodio es el reductor más utilizado. El mecanismo de formación de los hidruros es complicado, y se han propuesto las siguientes reacciones [2], donde R se refiere a un radical orgánico o puede ser hidrógeno:



Los hidruros volátiles como la arsina (AsH_3) son arrastrados por un gas portador como nitrógeno a una celda de cuarzo, que es calentada por una llama de aire-acetileno a una temperatura optimizada para producir la atomización del analito.

Cuando los gases pasan a través de este tubo calentado, ocurre una descomposición térmica, y se liberan los átomos del elemento:



Al pasar la luz emitida por la lámpara a través del conjunto de átomos, la absorción crece a medida que éstos se producen, llega a un máximo y cae al consumirse el analito y agotarse los átomos de la celda de absorción. Se puede registrar el máximo de absorción, que corresponde a la altura de pico, o el área bajo la curva, para relacionarlas con la concentración del analito.

La cuantificación de las diferentes especies de As puede realizarse separándolas antes de la formación del hidruro mediante procedimientos como la cromatografía [3], o bien a través del cambio en las condiciones de formación de los hidruros como tiempos de reacción y reactivos específicos [2,4-9].

4.3. MINERALIZACIÓN

Previamente a la generación de la arsina, la muestra, en caso de contener materia orgánica, debe ser sometida a un proceso de digestión para destruir los compuestos orgánicos del As y oxidarlo a As(V). El As(V) presente en el mineralizado es luego reducido a As(III) por reacción con yoduro de potasio o cloruro de estaño, el que posteriormente es convertido a arsina con borohidruro de sodio.

Una molécula proteica, por ejemplo, por un mecanismo de neutralización de cargas eléctricas o por fenómenos de absorción o adsorción, forma con los compuestos metálicos y no metálicos combinaciones de elevado peso molecular en las cuales desaparecen todas las características propias de los iones en solución. En esas condiciones, resulta improbable reconocer un elemento metálico ya que no puede ionizarse suficientemente como para producir una concentración adecuada de iones. Por ello es que se hace necesario destruir, disgregar o mineralizar la materia orgánica.

La mineralización de la materia orgánica es un proceso de combustión en el cual todo el carbono se transforma en CO₂.

4.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON GENERACIÓN DE HIDRUROS Y SISTEMA DE INYECCIÓN EN FLUJO (FIAS)

La espectroscopia de absorción atómica con generación de hidruros y sistema de inyección en flujo (*Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry*, FIAS) es un procedimiento muy utilizado para la cuantificación del arsénico, ya que permite el análisis de menor cantidad de muestra, disminuye la producción de residuos y de arsina (cuya toxicidad es elevada) y posibilita también la automatización de la técnica.

Se ha definido el sistema FIAS como una técnica analítica para la automatización de los análisis por vía húmeda. Se basa en la manipulación física y química de una zona que contiene la muestra dispersa formada por la inyección de la misma en un fluido portador. Un arreglo de FIA típico consta de una bomba, una válvula de inyección y un sistema de tuberías o mangueras, según se observa en la Figura 4.2.

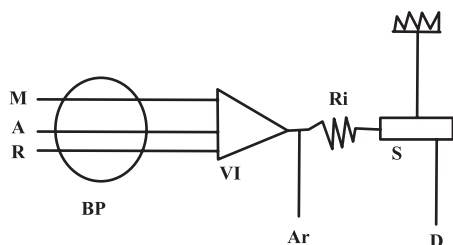


Figura 4.2. Esquema de un arreglo de FIA típico. M: muestra, R: reductor (NaBH₄), A: portador (HCl), BP: sistema de bombas peristálticas, VI: válvula de inyección, Ar: argón, Ri: rizo de reacción, S: separador gas-líquido, At: atomización, D: desecho

La bomba se utiliza para impulsar una o más corrientes al detector por una manguera angosta. Estas corrientes pueden contener los solventes, reactivos o soluciones reguladoras. La válvula de inyección se utiliza para introducir periódicamente un pequeño volumen de muestra en el flujo portador. Conforme se transporta la muestra hacia el detector (debido a la dinámica del flujo ocasionada por las mangueras angostas y su arreglo), la muestra y los reactivos se mezclan y forman las especies que pueden registrarse por un detector

específico como picos transitorios. Cabe señalar que en el momento de la detección no se alcanza ni el equilibrio físico ni químico. Las características del pico dependen de la hidrodinámica del sistema. Al trabajar en condiciones óptimas, la altura y el área de los picos son proporcionales a la concentración y se usan para la determinación de la misma en la solución problema al compararlas con las de los patrones [10, 11]. Al utilizar el sistema FIAS es muy importante tener en cuenta que la sensibilidad depende de la cantidad de muestra inyectada, del tiempo permitido para la reacción, de la cantidad que se desecha en el separador gas-líquido, del flujo de argón y de las condiciones de la superficie de la celda de cuarzo [12].

4.5. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO SOLUBLE EN AGUA MEDIANTE EL MÉTODO DE GENERACIÓN DE HIDRUROS (FIAS) Y ABSORCIÓN ATÓMICA [13]

SECCIÓN A. PROCEDIMIENTO

4.5.1. Aplicación

4.5.1.1. Este método es aplicable a la determinación de arsénico en muestras de agua potable, superficial, subterránea y residual. El mismo está basado en el protocolo establecido en la referencia [14].

4.5.1.2. El límite de detección de este método es $0,10 \mu\text{g As L}^{-1}$.

4.5.1.3. Mediante este método se puede determinar el arsénico en un rango de $0,10$ hasta $10,00 \mu\text{g As L}^{-1}$, y por dilución a concentraciones mayores.

4.5.2. Resumen del método

El arsénico forma hidruros covalentes volátiles por reacción con el borohidruro de sodio en solución ácida, y su generación como gas permite que sean transferidos a una celda de cuarzo calentada a $900 \text{ }^\circ\text{C}$ donde se produce la disociación y atomización de los mismos. De esta forma, se realiza la determinación de arsénico por la generación de sus hidruros mediante el sistema de inyección de flujo FIAS.

4.5.3. Precauciones de seguridad

4.5.3.1. Se requieren guantes quirúrgicos, mandiles, mascarilla para ácidos y anteojos de protección, así como tapones reductores de ruido.

4.5.3.2. Cada reactivo debe ser considerado como un peligro potencial a la salud, y la exposición a estos compuestos debe ser minimizada por buenas prácticas de laboratorio.

4.5.3.3. La manipulación de ácidos concentrados debe realizarse en campana extractora de gases, y se debe evitar la inhalación, ingestión y el contacto con la piel.

4.5.3.4. El hidróxido de sodio es una base fuerte; en contacto con la piel y ojos puede causar irritaciones severas o quemaduras.

4.5.3.5. El borohidruro de sodio reacciona fuertemente con agua y ácidos, liberando hidrógeno. Puede presentarse peligro de explosión, especialmente si se calienta.

4.5.3.6. Deben lavarse escrupulosamente las manos después de manipular soluciones concentradas de arsénico.

4.5.4. Precauciones para la operación

4.5.4.1. La solución madre de arsénico estándar certificado, disponible comercialmente, debe usarse dentro de su tiempo de vigencia,

4.5.4.2. Las soluciones estándar de 100 mg As L⁻¹ y la solución estándar de 5,0 mg As L⁻¹ se prepara cada dos meses. Las soluciones estándar de 50 y 20 µg As L⁻¹ y los estándares de calibración se preparan el día del análisis.

4.5.4.3. La solución de borohidruro de sodio e hidróxido de sodio debe prepararse el día del análisis. No debe guardarse para su posterior uso.

4.5.4.4. El ácido nítrico concentrado debe añadirse por las paredes del Erlenmeyer para evitar que se proyecte el líquido y ocasione quemaduras al analista.

4.5.4.5. El ácido sulfúrico concentrado debe añadirse por las paredes del Erlenmeyer para evitar que se proyecte el líquido y ocasione quemaduras al analista.

4.5.4.6. La solución de ácido ascórbico y yoduro de potasio debe prepararse el día del análisis. No debe guardarse para su posterior uso.

4.5.4.7. Reemplazar el tubo de argón cuando la presión sea menor de 100 psi.

4.5.4.8. Verificar que la celda de cuarzo esté limpia y no presente rayados e imperfecciones.

4.5.4.9. Se deben tomar las siguientes precauciones:

- Verificar que la presión del tubo de argón sea de 60 psi.
- Verificar el buen estado de las mangueras conductoras de flujo.

4.5.4.10. Lavado del material de trabajo

- Todo el material de vidrio debe enjuagarse con agua de grifo, inmediatamente después ser usado en el análisis de arsénico.

- Separar el material de vidrio que presente roturas o rajaduras. Este material debe depositarse en los contenedores para vidrio en desuso.

- Remover las etiquetas y los grabados utilizando alcohol industrial y una esponja.

- Enjuagar con abundante agua de grifo.

- Lavar el material con una escobilla de tamaño y forma adecuada, fregando por dentro las llaves de paso y otras pequeñas piezas con solución de detergente especial (Extrán neutro Merck o similar) para limpieza de material de vidrio.

- Enjuagar con abundante agua de grifo para remover los residuos de detergente.

- Colocar los frascos en una solución de ácido nítrico 1:3. Es aconsejable dejar los frascos en el baño de ácido durante 8 horas como mínimo.

- Enjuagar con abundante agua de grifo.

- Enjuagar con pequeñas porciones de agua destilada por tres veces.

- Enjuagar con agua ultrapura.

- Dejar escurrir.

- Secar en estufa a 50 °C por una hora los materiales de boca ancha y durante tres horas los materiales de boca angosta.

En general, el material de vidrio utilizado en el análisis de trazas de arsénico (frascos para almacenar reactivos, frascos Erlenmeyer, pipetas, probetas y otros) debe seguir el mismo procedimiento de limpieza y sólo se utilizará en los análisis de trazas de arsénico. Todo el material debe ser lavado antes de su uso y, una vez limpio, no debe ser expuesto al ambiente a excepción de lo estrictamente necesario. Las pipetas volumétricas calibradas Clase A y los matraces volumétricos se secan a temperatura ambiente. Los frascos utilizados para el almacenamiento de las muestras pueden ser de vidrio borosilicatado o polietileno.

4.5.4.11. Limpieza de la celda de cuarzo

- Antes de realizar la lectura por generación de hidruros se debe verificar que la celda de cuarzo esté limpia.

- Utilizar ácido fluorhídrico con extremo cuidado usando recipientes de plástico.

- Retirar las ventanas de la celda. Colocar la celda en un baño de ácido fluorhídrico concentrado (40%) por 20 minutos. Después lavar con abundante agua de grifo, enjuagar con agua ultrapura y secar con aire purificado. Colocar las ventanas e instalar la celda.

Esta limpieza debe hacerse cuando disminuye la absorbancia característica del arsénico en 30% (por ejemplo, el estándar de As de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ presenta una absorbancia de aproximadamente 0,400).

4.5.5. Interferencias [15]

4.5.5.1. Pueden suprimir la respuesta de los hidruros de arsénico concentraciones de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ Ag, Au, Pt y Pd, concentraciones mayores a 1 mg L^{-1} de Cu, Pb, Ni y concentraciones entre 0,1-1,0 mg L^{-1} de elementos que forman hidruros (Bi, Sb, Sn, Te).

4.5.5.2. Altas concentraciones de ácidos deprimen la señal de absorción.

4.5.6. Instrumental/materiales [13]

Nota: Las marcas y modelos de instrumentos son referenciales y el procedimiento puede ser aplicado para equipos similares. Tomar las marcas los modelos sólo como ejemplo.

4.5.6.1. Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo 5100 con sistema óptico de doble haz, monocromador de doble rendija y fotomultiplicador de amplio rango (189 – 852 nm).

4.5.6.2. Sistema analítico de inyección de flujo automático, modelo FIAS-100.

4.5.6.3. Celda de cuarzo.

4.5.6.4. Manta de calefacción.

4.5.6.5. Sistema de separación gas-líquido.

4.5.6.6. Membrana hidrofóbica.

4.5.6.7. Lámpara de descarga EDL de arsénico.

4.5.6.8. Fuente de potencia del sistema EDL.

4.5.6.9. Automuestreador AS-90.

4.5.6.10. Computadora.

4.5.6.11. Programa AAWinLab.

4.5.6.12. Balanza analítica de precisión.

4.5.6.13. Plancha eléctrica.

4.5.6.14. Frascos Erlenmeyer de 300 mL.

4.5.6.15. Probetas de 50,0 mL.

4.5.6.16. Pipetas volumétricas clase A de 0,5, 1, 2, 3, 5, 10 y 20 mL.

4.5.6.17. Pipetas serológicas de 5 y 10 mL.

4.5.6.18. Recipientes de Teflón de 1 L.

4.5.6.19. Vasos de 0,5 y 1,0 L.

4.5.6.20. Espátulas.

4.5.6.21. Frascos de plástico de 250 mL con tapa.

4.5.6.22. Tubos de plástico para centrífuga de 50 mL.

4.5.6.23. Tubos de plástico para centrífuga de 15 mL.

4.5.7. Reactivos [13]

Nota: Se deben utilizar reactivos de grado analítico o superior y que cumplan con normas internacionales de calidad (ACS, ISO).

Nota: Todos los reactivos se deben almacenar en recipientes adecuados, provistos de etiquetas indicando el nombre del reactivo, fecha de preparación e iniciales del analista.

4.5.7.1. Agua ultrapura grado reactivo tipo I según especificación del Standard Methods [14].

4.5.7.2. Ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado (95 – 97%), p.a.

4.5.7.3. Ácido nítrico (HNO_3) concentrado (65%), p.a.

4.5.7.4. Ácido clorhídrico (HCl) concentrado (37%), p.a.

4.5.7.5. Solución de borohidruro de sodio e hidróxido de sodio. Se disuelven 0,2 g de $NaBH_4$ y 0,5 g de NaOH con agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 100 mL.

4.5.7.6. Solución de ácido clorhídrico 10%. Se diluyen 10,0 mL de ácido clorhídrico concentrado y se llevan a 100 mL con agua ultrapura.

4.5.7.7. Solución de ácido ascórbico e yoduro de potasio. Se disuelven 5,0 g de ácido ascórbico y 5,0 g de yoduro de potasio con agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 100 mL.

4.5.7.8. Solución madre 1,0 g As L^{-1} .

4.5.7.9. Solución estándar de As (estándar certificado disponible comercialmente); de usarse Titrisol, diluir cuidadosamente el contenido de una ampolla de Titrisol de As (1,0 g L^{-1}) y 5 mL de ácido clorhídrico concentrado con agua ultrapura, hasta alcanzar un volumen de 1000 mL. Almacenar en frasco de vidrio borosilicatado con tapa esmerilada y cubrir la tapa con parafilm.

4.5.7.10. Solución estándar 100 mg As L^{-1} . Se diluyen 10,0 mL de solución madre 1,0 g As L^{-1} con una solución de HCl (5/1000) hasta alcanzar un volumen de 100 mL.

4.5.7.11. Solución estándar 5,0 mg As L^{-1} . Se diluyen 5,0 mL de solución estándar 100 mg As L^{-1} con una solución de HCl (5/1000) hasta alcanzar un volumen de 100 mL.

4.5.7.12. Solución estándar 50 μg As L^{-1} . Se diluye 1,0 mL de solución estándar 5,0 mg As L^{-1} con una solución de HCl (5/1000) hasta alcanzar un volumen de 100 mL.

4.5.8. Calibración del equipo [15-17]

Nota: El instrumento se calibra de acuerdo a las instrucciones del fabricante. En el caso de este Procedimiento, se refiere al instrumento usado por el laboratorio específico (CEPIS) que desarrolló este Procedimiento. En otros laboratorios, se deben seguir las instrucciones recomendadas por el fabricante.

A continuación, se dan las instrucciones para el sistema conformado por los componentes señalados en los puntos 4.5.6.1 al 4.5.6.11.

4.5.8.1. Para el manejo del espectrofotómetro de absorción atómica y el sistema de análisis por inyección de flujo, consúltese la guía del programa *AAWinLab*. Para el manejo del automuestreador, consúltese la guía del usuario AS-90 Series.

4.5.8.2. Se enciende el equipo, sistema de análisis por inyección de flujo, el automuestreador y se abre la llave del tubo de argón. Se verifica que el manómetro registre 60,0 psi y el medidor que se observa en el equipo marque un poco más de 50 psi.

4.5.8.3. Se instala la lámpara de descarga de arsénico en el conector de la fuente de potencia a una corriente de 400 miliamperios. Se coloca en el sistema intercambiador de lámparas y se calienta por lo menos 30 minutos.

4.5.8.4. Se enciende la computadora y se ingresa al programa *AAWinLab*.

4.5.8.5. Se activa la opción *aligning lamps* (tecla F3) para encender la lámpara.

4.5.8.6. Se ajusta la energía máxima de la lámpara con la opción *set midscale*. Se alinea hasta tener un máximo de energía entre 64 y 69.

4.5.8.7. La calibración del equipo consiste en la alineación de la celda de cuarzo en la manta de calefacción, la cual se instala luego de retirar la cámara de premezcla y el quemador. Se activa la opción *continuous graphics* y se alinea la celda con las perillas: horizontal, vertical y angular, hasta una absorbancia de 0,870 o menos.

4.5.8.8. Se verifican las siguientes condiciones para el análisis de arsénico.

- Longitud de onda (λ): 193,7 nm.

- *Slit*: 0,7.

- Flujo del argón: 50 mL min⁻¹.

4.5.8.9. Se enciende el extractor.

4.5.8.10. Se calienta la celda a través del interruptor ubicado en el icono *FIAS* hasta una temperatura de 900 °C.

4.5.8.11. Se instalan las mangueras que ingresan a las soluciones de borohidruro de sodio e hidróxido de sodio (roja-reductora) y ácido clorhídrico (azul-portadora) en los cabezales que rodean la bomba peristáltica. Se prende la bomba y se verifica los flujos colocando el terminal de la manguera (que se introduce en la solución) en una probeta con agua ultrapura. Haciendo uso de un cronómetro, se mide la velocidad de flujo al accionar la opción *Valve 1* en el icono *FIAS* durante un minuto. Debe ser de 10 a 12 mL min⁻¹ para la solución portadora y de 5 a 7 mL min⁻¹ para la solución reductora. En caso de no obtener estos valores, ajustar o desajustar con las perillas de ajuste de presión que se ubican en la parte superior del cabezal de la bomba peristáltica. Se apaga la bomba.

4.5.8.12. Se coloca la membrana hidrofóbica en el separador gas líquido y se enrosca la tapa. La parte brillante de la membrana debe estar en la parte superior. Se enrosca en la parte central de la tapa el terminal azul del conector que transporta el gas a la celda. Se instala el terminal blanco de este conector a la celda para que quede una conexión hermética.

4.5.8.13. Se ponen los terminales de las mangueras en las soluciones reductora y portadora.

4.5.8.14. Se llena el vaso del muestreador con agua ultrapura. Se verifica que el volumen de agua no disminuya.

4.5.8.15. Se ingresa al icono *FIAS*.

4.5.9. Calibración del método

4.5.9.1. Los estándares de arsénico se preparan añadiendo los volúmenes siguientes de la solución estándar de 50,0 $\mu\text{g As L}^{-1}$ a frascos volumétricos de 50 mL. La línea de base de la curva de calibración se establece con el blanco de reactivos de la curva de calibración (0,00 $\mu\text{g As L}^{-1}$).

Tabla 4.1. Volúmenes de la solución estándar de 50,0 $\mu\text{g As L}^{-1}$

Volumen a adicionar (mL)	Concentración de As ($\mu\text{g L}^{-1}$)
0	0,00
0,5	0,50
1	1,00
3	3,00
5	5,00
10	10,00
20	20,00

4.5.9.2. Inmediatamente y en campana extractora de gases se añaden 5,0 mL de ácido clorhídrico concentrado y 5,0 mL de solución de ácido ascórbico y yoduro de potasio. Se deja en reposo durante 30 minutos.

4.5.9.3. Se lleva a volumen con agua ultrapura y se trasvasan los estándares a los tubos de plástico para centrífuga de 50 mL. Se continúa según se indica en el ítem 4.3.11.9.

4.5.10. Muestreo y preservación

4.5.10.1. Debido a la elevada sensibilidad del método analítico, evitar la contaminación externa. Los frascos de muestras, conservadores y material de plástico deben estar libres de arsénico.

4.5.10.2. Para la determinación de arsénico en agua, las muestras se preservan con ácido nítrico hasta $\text{pH} < 2$. Se añade 1,0 mL de ácido nítrico por litro de muestra. Se almacena a una temperatura de 4 °C, por un tiempo máximo de seis meses.

4.5.10.3. Para la determinación de arsénico disuelto, la muestra debe ser filtrada a través de un filtro de membrana de 0,45 μm de porosidad, tan pronto como sea posible después de su recolección. Se acidifica el filtrado con ácido nítrico diluido 1+1 hasta $\text{pH} < 2$.

4.5.11. Procedimiento de análisis

4.5.11.1. En un frasco Erlenmeyer de 300 mL se toma un volumen de 50 mL de agua ultrapura como blanco de reactivos.

4.5.11.2. Se agita vigorosamente la muestra y se toman 50 mL en una probeta graduada, los cuales se transfieren a un frasco Erlenmeyer de 300 mL.

4.5.11.3. Inmediatamente, y en campana extractora de gases, se añaden 10,0 mL de ácido nítrico concentrado y 5,0 mL de ácido sulfúrico concentrado a cada muestra y blanco de reactivos.

4.5.11.4. Se colocan los frascos Erlenmeyer en la plancha eléctrica caliente y se digiere lentamente hasta eliminación de vapores nitrosos (eliminar 30 minutos aproximadamente) y concentración del volumen hasta 5 mL aproximadamente.

4.5.11.5. Se dejan enfriar los frascos Erlenmeyer. Se transfiere el volumen de muestra concentrada a un frasco volumétrico de 50,0 mL. Se lavan las paredes del frasco Erlenmeyer y se enrasa con agua ultrapura.

4.5.11.6. Se filtra la muestra por papel Wathman N° 40 si es necesario.

4.5.11.7. En un frasco volumétrico de 25 mL, se toma una alícuota de 5,0 mL de muestra concentrada. Inmediatamente y en campana extractora de gases se añaden 2,5 mL de ácido clorhídrico concentrado y 2,5 mL de solución de ácido ascórbico e yoduro de potasio. Se deja reposar durante 30 minutos.

4.5.11.8. Se enrasa con agua ultrapura y se trasvasa a tubos de centrífuga de 15 mL.

4.5.11.9. Análisis de muestras. Se colocan los estándares de calibración y las muestras en el automuestreador. Se ingresa a la ventana *Setup* y se crea un archivo de información con la opción *sample information file*, el cual incluye el número de las muestras a analizar y el factor de dilución de las mismas. Se verifica el número de ubicación de la muestra en el automuestreador. Se graba y se marca la opción *Use Entire Sample Into File*.

4.5.11.10. Se crea un archivo para grabar los resultados (Analxxxx). Se crea un archivo de resultados haciendo uso de las opciones *utilities* y *reformat* de manera secuencial. Mediante la opción *Open Design* se llama a un archivo anterior. Se asigna un nuevo nombre al grupo de muestras analizadas en las opciones *Name* y *Path* (incluyendo las opciones de interés para la estadística de los resultados requeridos). Se activa la opción

Save design As y se graba. Se ha creado así el archivo de resultados.

4.5.11.11. En el icono *FIAS* se activa el interruptor de encendido. De aparecer el mensaje *Read in the first step is not allowed*, debe dirigirse al editor del método y en la opción *FIAS* activar la opción *Default*.

4.5.11.12. En la opción *Analyze* activar *Select Location*, activar *Analyze sample in location*, y se escribe el número en que se encuentra ubicado el estándar de 20 µg AsL⁻¹; luego se activa *OK*. El equipo procederá a registrar la absorbancia de la muestra. Repetir esta lectura dos o tres veces hasta que la absorbancia sea constante y esté entre 0,700 y 0,900.

4.5.11.13. Activar *Analyze sample in location*, y escribir el número cero, para lavar internamente el sistema. Verificar que la absorbancia sea cero.

4.5.11.14. Activar la opción *Calibrate*, de modo que el equipo proceda a elaborar la curva de calibración en forma automática.

4.5.11.15. Una vez finalizada la curva de calibración, activar la opción *Analyze Samples*, de modo que el equipo realice el análisis de las muestras en forma automática.

4.5.11.16. En caso de que la concentración de la muestra exceda la escala de trabajo, se diluyen a un volumen tal que la concentración pueda calcularse mediante la curva de calibración desarrollada. La dilución se prepara diluyendo una alícuota de la muestra digerida, tomada con una pipeta volumétrica, en un frasco volumétrico y enrasando con agua ultrapura. Repetir nuevamente el paso 4.5.11.7. Se ingresa este factor de dilución en el archivo de información indicado anteriormente.

4.5.11.17. En el archivo de resultados, haciendo uso de las opciones *utilities* y *reformat* de manera secuencial, se graban los resultados mediante la opción *Save Results*. En el caso de grabar en más de una ocasión en un mismo archivo, seguir este procedimiento y activar la opción *Overwrite*.

4.5.11.18. Una vez finalizado el análisis, en el icono *FIAS* apagar la celda, retirar el terminal que une el separador gas líquido con la celda, retirar los terminales de las soluciones reductora y portadora, así como el sistema de toma de muestra, y sumergirlos en un vaso con agua ultrapura. En el icono *FIAS* activar las opciones *Valve 1* y *Valve 2* durante tres minutos, a fin de lavar todo el sistema. Retirar los terminales y secarlos. Desajustar las perillas de ajuste de presión y levantar los cabezales de la bomba peristáltica.

4.5.11.19. Los frascos de muestras se almacenan a 4 °C durante un mes. Los extractos de los frascos de centrifuga se almacenan a temperatura ambiente durante un mes. Finalizado este período, se acumulan en contenedores para su posterior tratamiento y disposición final.

4.5.12. Análisis de datos

4.5.12.1. El contenido de arsénico total en la muestra se calcula de la siguiente manera:

$$C = C_{As} - C_{bk} \quad (4.9)$$

donde:

C = concentración de arsénico en la muestra en µg As L⁻¹.

C_{As} = concentración de arsénico registrado por el equipo en µg As L⁻¹.

C_{bk} = concentración del blanco registrado por el equipo en µg As L⁻¹.

4.5.12.2. Las concentraciones registradas por el equipo se obtienen de la opción *AAWinLab Reporter*. También se obtienen del archivo creado en el paso 4.5.11.9 en hoja de cálculo. Existen programas disponibles que permiten al analista importar los *archivos de extensión*

prn del programa *AAWinLab* y emitir el reporte final de resultados. El resultado se debe expresar en $\mu\text{g As L}^{-1} \pm I$, donde *I* es la incertidumbre (ver sección 4.5.21).

4.5.12.3. Se ingresa al programa *Laboper*.

4.5.12.4. Se ingresa el *login* y el *password* del usuario (previamente asignada).

4.5.12.5. Se activa la opción *calcular parámetros* y se ingresa a la opción *Área Metales*.

4.5.12.6. Se activa la opción *importar resultados* y se ingresa a la opción *importar desde el archivo*. El programa se dirigirá al subdirectorio, en el cual se encuentran los archivos a importar.

4.5.12.7. Se selecciona el archivo de interés y se activa la opción *iniciar proceso*. Una vez finalizado el proceso, el programa emitirá el mensaje *fin del proceso*. Se activan las opciones *aceptar* y *salir*.

4.5.12.8. Se activa la opción *correlativo de muestra* y una vez que el cursor se ubique en el casillero a la derecha, escribir el número de la muestra a reportar (en el caso de un lote de muestras, escribir el número de la primera muestra del lote).

4.5.12.9. Se activa la opción *ver parámetros*. A continuación, el programa mostrará los resultados procesados.

4.5.12.10. Se ingresa a la opción *hoja resultados parcial* y se activa la opción *imprimir*. Automáticamente se generará una hoja de cálculo con el reporte de resultados final. Se ingresa a la opción *guardar como* y se selecciona la ruta en la que se grabará el resultado. El resultado se guarda activando la opción *aceptar*.

4.5.12.11. Se ingresa a la opción *archivo* y se activa la opción *salir* para final el proceso.

4.5.12.12. Los resultados que se generan del programa *AAWinLab* se almacenan en el disco duro de la computadora asociada al equipo de medición, y se genera una copia impresa la cual se almacena en el registro *Análisis de Arsénico Resultados AAWinLab*. Los resultados finales que se generan del programa *Laboper* se almacenan en la red del Centro y se guarda una copia en CD, y se genera una copia impresa la cual se almacena en el registro Resultado de análisis de arsénico.

4.5.13. Registro

Se generan los siguientes registros, los cuales se encuentran en la sala de instrumentación:

4.5.13.1. Cuaderno de toma de muestras: es un registro de las muestras para análisis de arsénico, donde se consigna el nombre del analista, fecha de análisis, el método que se aplica, la identificación de la muestra, acompañado de su control de calidad, alícuota tomada sea en peso o volumen y volumen final a la que se lleva.

4.5.13.2. Formato de preparación de reactivos: donde se registra la fecha de preparación, reactivo preparado, volumen de la solución preparada, marca y lote del reactivo, tiempo de duración máxima, nombre del analista que preparó.

4.5.13.3. Formato de preparación de estándares de calibración y control: se registra fecha de preparación, volumen preparado, nombre del analista que los preparó, marca y lote del estándar. El frasco de almacenamiento tiene una etiqueta donde se indica estándar preparado o estándar control, fecha de preparación, iniciales del analista, la concentración de cada analito, preservación, tiempo de duración máximo.

4.5.13.4. Cuaderno de mantenimiento de los equipos: donde se señalan los problemas en el equipo, para el mantenimiento preventivo y correctivo del mismo.

4.5.13.5. Cuaderno de disposición de muestras y extractos: se registra fecha de ingreso, lote, fecha de eliminación, nombre del responsable de las muestras y extractos en custodia.

4.5.13.6. Cuaderno de no conformidades: se registran la fecha y nombre del responsable,

la identificación del problema, causas del problema y las acciones correctivas o preventivas del mismo.

4.5.13.7. Resultados de análisis de arsénico *AAWinLab*: donde se archiva la copia impresa de los resultados del programa *AAWinLab*.

4.5.13.8. Resultado análisis de arsénico: donde se archivan los resultados finales.

4.5.13.9. Cartas de control trazas de arsénico: se archivan las cartas de control mensual de arsénico.

4.5.14. Límite de detección

El límite de detección del método (LDM) es $0,10 \mu\text{g As L}^{-1}$ y se calcula de acuerdo al procedimiento descrito en el manual de control de calidad analítica [18].

SECCION DE CONTROL DE CALIDAD [19]

4.5.15. Control de la exactitud

Para comprobar la exactitud del análisis se puede usar una muestra de control de la USEPA (*Environmental Protection Agency*, Agencia de Protección Ambiental de EE. UU.), una muestra de control preparada interna del laboratorio u otro material de referencia. Se manipula el contenido de la ampolla según las instrucciones y se analiza como se describe en la Sección de procedimiento. Se compara el resultado con su valor de referencia y límites de aceptación. Los resultados obtenidos deben estar dentro de los límites de control establecidos. Cuando el resultado no se encuentre dentro del rango de los límites aceptables, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis. Los límites de control se verifican anualmente o si se realizan modificaciones en el método. La muestra de control se analiza cada 15 días.

4.5.16. Control de la precisión

En el caso del análisis de una serie de muestras, se debe realizar un duplicado después de cada 10 muestras. El porcentaje de la desviación promedio relativa (RPD) no debe ser mayor del 10%. Sólo para los duplicados cuyas concentraciones se encuentren en el orden de 1 y 5 veces el límite de detección del método (LDM), el porcentaje RPD puede ser menor o igual a 20%.

$$\text{RPD} = \frac{C_1 - C_{1-d}}{(C_1 + C_{1-d})/2} * 100 \quad (4.10)$$

donde:

RPD: desviación promedio relativa

C_1 : concentración de la muestra

C_{1-d} : concentración de la muestra duplicada

De no cumplirse esta regla, se debe repetir el análisis de la muestra y su duplicado. En caso contrario, se debe repetir el lote de muestras analizadas.

4.5.17. Adición de estándar

En cada lote de muestras, se analiza una muestra por duplicado y al duplicado se le agrega

1 mL de solución estándar de 50,00 $\mu\text{g As L}^{-1}$. El porcentaje de recuperación del estándar debe estar entre 90 y 110%. De no cumplirse esta regla, se debe repetir el análisis de la muestra y su duplicado con la adición. En caso de que no se logre la recuperación, se debe repetir el lote de muestras analizadas.

4.5.18. Control de blancos

En cada lote de muestras se analiza un blanco de trabajo; los blancos analíticos deben estar preparados con agua ultrapura en cada lote de muestra y tratados de la misma forma que las muestras para identificar posibles fuentes de contaminación (blanco de reactivos del método). El resultado obtenido debe ser menor que el límite de detección del método (LDM). Si es necesario realizar acciones correctivas, éstas deben estar documentadas.

4.5.19. Estándares de verificación

La curva de calibración se verifica con 2 estándares de 2,00 y 8,00 $\mu\text{g As L}^{-1}$ con cada lote de muestras. Los estándares de verificación se preparan a partir de una solución madre diferente a la utilizada para la preparación de la curva de calibración. El valor obtenido no debe diferir de $\pm 15\%$ del valor del estándar. En caso contrario, se debe preparar una nueva curva de calibración. Si es necesario realizar acciones correctivas, éstas deben estar documentadas.

4.5.20. Cartas de control

Se deben mantener al día las cartas de control para los blancos, las muestras duplicadas y los estándares de verificación. Se deben calcular los límites de control y advertencia, y construir la carta de control como se indica en el manual de control de calidad analítica del laboratorio [18]. Inmediatamente después de analizar las muestras control, graficar el valor en la carta de control. Se debe tomar una acción correctiva en los siguientes casos:

- Si el valor determinado está fuera de los límites de control, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis.
- Si 2 de 3 valores determinados sucesivamente están fuera de los límites de advertencia, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis.
- Si 7 de 8 valores determinados sucesivamente se encuentran al mismo lado de la línea promedio, se debe revisar el procedimiento.

4.5.21. Incertidumbre

La incertidumbre expandida del resultado analítico se expresa mediante la siguiente ecuación:

$$I = \frac{K * Sd_{ci}}{\sqrt{n}} \quad (4.11)$$

$$Sd_{ci} = \sqrt{Sd_{ad}^2 + Sd_{mc}^2 + Sd_{dup}^2} \quad (4.12)$$

donde:

I = incertidumbre del resultado analítico

K = distribución t de Student de 2 colas para (n-1) grados de libertad con un intervalo de

confianza de 95% (si $n \geq 30$, $k = 2$).

Sd_{ci} = incertidumbre estándar combinada para un nivel i

Sd_{mc} = desviación estándar de muestra de control para un nivel i

Sd_{ad} = desviación estándar de muestra de fortificada para un nivel i

Sd_{dup} = desviación estándar de muestras duplicadas para un nivel i

Nota: ver definiciones y cálculos de Sd_{mc} , Sd_{ad} y Sd_{dup} en el procedimiento de operación de evaluación de incertidumbre de la medición [19].

Reporte la concentración de la muestra como $C \pm I$.

REFERENCIAS

1. Beaty R.D., Kerber J.D., 2002. Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry, Perkin Elmer Inc. Shelton, USA.
2. Howard A.G.: (Boro)Hydride Techniques in Trace element Speciation. *J. Anal. At. Spectrom* 12 (1997), págs. 267-272.
3. Gong H., Lu X., Ma M., Watt C., Le X.C.: Arsenic speciation analysis. *Talanta* 58 (2002), págs. 77-96.
4. Nielsen S., Hansen E.H.: Determination of As(III) and As(V) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry via on-line reduction of As(V) by KI. *Analytica Chimica Acta* 343 (1997), págs. 5-17.
5. Shraim A., Chiswell B., Olszowy H.: Speciation of arsenic by hydride generation-atomic absorption spectrometry (HG-AAS) in hydrochloric acid reaction medium. *Talanta* 50 (1999), págs. 1109-1127.
6. Carrero P., Malavé A., Burguera J.L., Burguera M., Rondón C.: Determination of various arsenic species by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry: investigation of the effects of the acid concentration of different reaction media on the generation of arsines. *Anal. Chim. Acta* 438 (2001), págs. 195-204.
7. Maity S., Chakravarty S., Thakur P., Gupta K.K., Bhattacharjee S., Roy B.C.: Evaluation and standardisation of a simple HG-AAS method for rapid speciation of As(III) and As(V) in some contaminated groundwater samples of West Bengal, India. *Chemosphere* 54 (2004), págs. 1199-1206.
8. Sigríst M.E., Beldoménico H.R.: Determination of inorganic arsenic species by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry with variable sodium tetrahydroborate concentrations. *Spectrochim. Acta Part B: At. Spectr.* 59, págs. 1041-1045.
9. Akter K.F., Chen Z., Smith L., Davey D., Naidu R.: Speciation of arsenic in ground water samples: A comparative study of CE-UV, HG-AAS and LC-ICP-MS. *Talanta* 68 (2005), págs. 406-415.
10. Cañizares-Macías M.P.: Análisis por inyección en flujo: herramienta clave para la automatización analítica. *J. Mex. Chem. Soc.* 46 (2002), págs. 167-174.
11. GlobalFIA. <http://www.globalfia.com>. (consultado 18 julio de 2008).
12. Perkin Elmer, 2000. Flow Injection Mercury/Hydride Analysis. Recommended Analytical conditions and General information.
13. CEPIS, 2004. PNO Determinación de Arsénico por Generación de Hidruros (FIAS) y Absorción Atómica.
14. American Public Health Association. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20. Edition, Part 3114-C [2].
15. Perkin Elmer Corporation. 1994. Flow injection system. Pump module series description and maintenance.
16. Perkin Elmer Corporation. 1996. AA WinLab Software Guide.
17. Perkin Elmer Corporation. 1999. Autosampler for atomic spectrometry AS-90 User's guide.
18. CEPIS. 1999. Manual de control de calidad analítica. Lima; CEPIS.
19. CEPIS. 2005. Procedimiento de procedimiento de operación de evaluación de incertidumbre de la medición. Lima; CEPIS.

Capítulo 5

Absorción atómica con horno de grafito

NELLY MAÑAY, GIOVANNA CLAVIJO Y LAURA DÍAZ

5.1. GENERALIDADES: ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA [1]

Dentro de los métodos espectrométricos de análisis para identificar y cuantificar elementos presentes en distintas matrices, se encuentra la espectrometría óptica atómica, a la cual refiere este capítulo. Este método convierte elementos presentes en una muestra en átomos o iones elementales en estado gaseoso por medio de un proceso denominado atomización.

Los dos métodos más utilizados para lograr la atomización de la muestra incluyen la aplicación de una llama (empleada en la absorción atómica con llama, FAAS) o el uso de energía electrotérmica en horno de grafito.

En este apartado se describen las generalidades de la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS), también llamada con atomización electrotérmica.

La técnica de GFAAS permite bajar los límites de detección al rango de partes por billón (ppb) con una instrumentación relativamente sencilla y sin los esfuerzos y pérdidas de tiempo que conllevan las técnicas de extracción previa.

En la Figura 5.1 se muestra una fotografía de uno de los modelos de equipos frecuentemente usados y en la Figura 5.2 un esquema simple de las partes constituyentes.



Figura 5.1. Fotografía de un equipo de espectrofotometría de absorción atómica

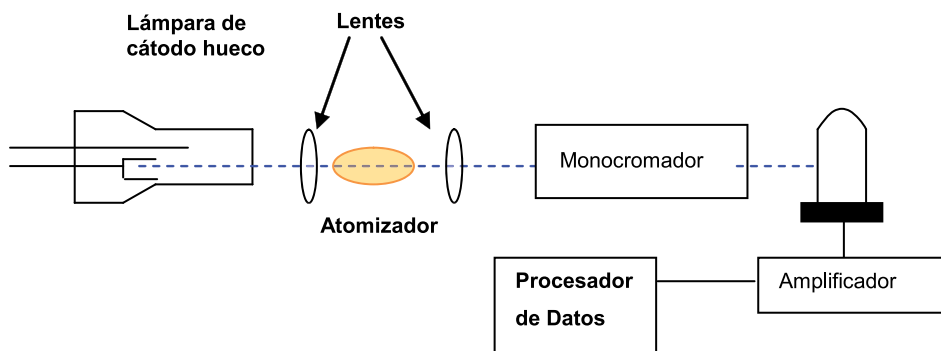


Figura 5.2. Esquema de los constituyentes de un equipo de espectrofotometría de absorción atómica.

5.2. FUNDAMENTO TEÓRICO (GFAAS) [1,2]

El principio del método se basa en la absorción de luz por parte de un elemento en estado atómico. La longitud de onda a la cual la luz es absorbida es específica de cada elemento. Se mide la atenuación de la intensidad de la luz como resultado de la absorción, siendo la cantidad de radiación absorbida proporcional a la cantidad de átomos del elemento presente.

El método involucra fundamentalmente 2 procesos: la atomización de la muestra y la absorción de radiación proveniente de una fuente por los átomos libres. El tratamiento de la muestra hasta la atomización comprende las siguientes etapas:

Secado. Una vez que la muestra ha sido inyectada en el tubo de grafito, se calienta a una temperatura algo inferior al punto de ebullición del solvente (usualmente entre 80 a 180 °C). El objetivo de esta etapa es la evaporación del solvente. La muestra inyectada (2-20 µL) en el horno de grafito es sometida a una temperatura algo inferior al punto de ebullición del solvente (80-180 °C). Aquí se evaporan el solvente y los componentes volátiles de la matriz.

Calcinado. El próximo paso del programa es el calcinado por incremento de la temperatura, para remover la mayor cantidad de material (materia orgánica) de la muestra como sea posible, sin pérdida del analito. La temperatura de calcinación usada varía típicamente en el rango de 350 a 1600 °C. Durante el calcinado, el material sólido es descompuesto mientras que los materiales refractarios, como por ejemplo los óxidos, permanecen inalterados.

Atomización. En esta etapa, el horno es calentado rápidamente a altas temperaturas (1800-2800 °C) para vaporizar los residuos del paso de calcinado. Este proceso lleva a la creación de átomos libres en el camino óptico. Se mide la absorbancia durante este paso. La temperatura de atomización depende de la volatilidad del elemento.

Usualmente se agrega una cuarta etapa para limpieza del horno a una temperatura algo superior a la temperatura de atomización. Cuanto mejor sea la separación de los elementos concomitantes del analito, mejor será la atomización y la determinación estará mas libre de interferencias.

5.3. ATOMIZADORES ELECTROTÉRMICOS [1,2]

En este sistema, la atomización tiene lugar en un tubo cilíndrico de grafito abierto en ambos extremos y que tiene un orificio central para la introducción de la muestra mediante un inyector automático. El tubo presentado en la Figura 5.2 tiene unos 5 cm de largo y un diámetro interno algo menor a 1 cm (existen por supuesto aparatos de dimensiones distintas). Este tubo intercambiable se ajusta perfectamente a un par de contactos eléctricos que se ubican en los dos extremos del mismo. Estos contactos se mantienen dentro de un módulo refrigerado por agua. Dos corrientes de gas inerte circulan por este módulo: una corriente externa que evita la entrada de aire exterior y permite que dentro del tubo se alcance la atomización de la muestra y una corriente interna que fluye por entre los dos extremos del tubo y sale por el orificio central del compartimiento de muestra. Esta corriente no sólo elimina el aire sino que sirve también para desalojar los vapores generados a partir de la matriz de la muestra durante las dos primeras etapas de calentamiento.

Se ha demostrado que reduciendo la porosidad natural del tubo de grafito pueden disminuirse algunos efectos de la matriz y mejorarse la reproducibilidad en aquellos aspectos asociados al proceso de atomización. Para mitigar este efecto, suele recubrirse la superficie de grafito con una fina capa de grafito pirolítico, que permite sellar los poros del horno.

Existen dos tipos de hornos de grafito: con plataforma incorporada y sin plataforma.

Los hornos provistos de plataforma (Plataforma L'vov, ver más adelante) poseen una pieza de grafito pirolítico sólido que contiene una depresión central para contener el líquido. La muestra se evapora y se calcina sobre esta plataforma de acuerdo con el programa de temperatura establecido previamente.

Existe un mínimo de contacto físico entre el tubo y la plataforma, ya que la plataforma es sostenida sólo por los bordes. El efecto de la plataforma es retrasar la atomización de la muestra. El aumento de temperatura es controlado dentro del tubo, debido a que un aumento brusco en la misma retrasa la atomización, ya que la muestra no tiene el tiempo de contacto suficiente con la pared del horno. De este modo, se obtienen picos más reproducibles.

La atomización del analito que ocurre en la plataforma se desarrolla en un ambiente significativamente más caliente que si hubiese ocurrido en la pared del tubo de grafito. Uno de los beneficios de la plataforma es proporcionar un ambiente a elevadas temperaturas cuando se da el proceso de atomización; de este modo, se consigue disminuir las interferencias y las señales de fondo generadas por los elementos volátiles.

Sin embargo, las plataformas pirolíticas poseen limitaciones prácticas. El volumen de muestra que puede ser descargado dentro de la plataforma está limitado a un máximo de 40 µL. Las plataformas también pueden causar una pequeña reducción en el rendimiento de la luz, por lo que la alineación es crítica para asegurar un máximo de beneficio. Además, se requieren programas térmicos que alcancen temperaturas más elevadas.

Los tubos de grafito pueden adquirir dos posiciones distintas dentro del instrumento según la forma en que fue diseñado: en posición longitudinal o transversal respecto al haz de luz proveniente de la lámpara de cátodo hueco.

Cuando el tubo se encuentra ubicado longitudinalmente, debe refrigerarse por los extremos. Como resultado, se genera siempre un gradiente de temperatura a lo largo del tubo, y la porción del tubo adyacente a los contactos eléctricos está más fría que la región central. Este gradiente de temperatura puede causar que átomos y moléculas vaporizadas se condensen en forma difusa al final del tubo. Esto produce habitualmente interferencias

del tipo de remoción incompleta del analito o de la matriz, que provoca un aumento en la magnitud de la absorción de la señal de fondo durante la atomización. Además, incrementa el efecto “memoria” que ocurre cuando una porción del analito durante la atomización de la muestra actual permanece en el tubo contribuyendo a la señal analítica de la siguiente muestra. Para minimizar este efecto “memoria”, la mayoría de los tubos en posición longitudinal utilizan uno o más pasos de limpieza en el programa de temperatura luego del paso de atomización. Dicha etapa de limpieza implica la aplicación de un flujo de gas inerte por unos segundos a una temperatura igual o mayor que la temperatura de atomización, con el fin de remover los componentes residuales de la muestra. Se debe tener en cuenta, además, que este paso adicional reduce la vida útil del tubo.

Los tubos de grafito transversales eliminan los problemas asociados con los dispuestos en forma longitudinal. Los tubos transversales incluyen dispositivos de cada lado, los cuales están insertas en los contactos eléctricos. Cuando se aplica la potencia eléctrica, el tubo se calienta alrededor de su circunferencia (transversalmente). Calentándose de esta forma, el tubo reduce los problemas de condensación que ocurren en el sistema anterior. Una ventaja adicional de los sistemas de tubos transversales es que permiten la corrección por efecto Zeeman y proveen una mejora significativa en el rendimiento de la luz. El efecto Zeeman es el cambio del espectro atómico cuando un átomo es modificado por acción de un campo magnético: la señal de absorción única se desdobra en dos o más componentes simétricamente dispuestos en torno a la posición normal de absorción (Figura 5.3). Por otro lado, el espectro de la absorción de fondo no es usualmente afectado por campos magnéticos.

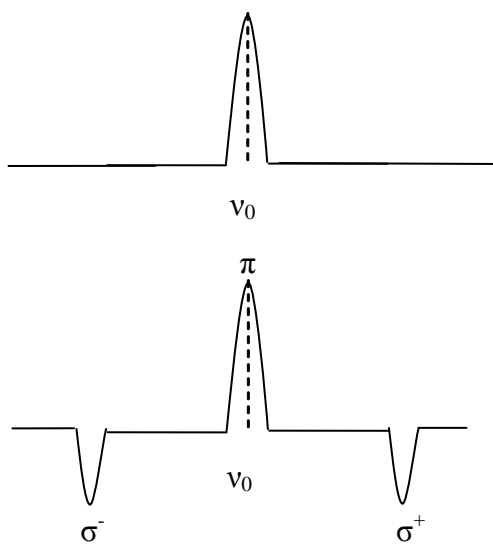


Figura 5.3. El efecto Zeeman. Arriba: espectro de un átomo no modificado. Abajo: espectro de un átomo sometido a la acción de un campo magnético.

5.4. GENERALIDADES DE LA METODOLOGÍA [1,2]

Un volumen pequeño de muestra, usualmente entre 2 a 20 μL , es adicionado directamente en el tubo de grafito revestido pirolíticamente. Dicho revestimiento lo vuelve resistente a los procesos de oxidación que ocurren dentro del tubo, aumentando así su vida útil y haciéndolo impermeable a líquidos, para evitar su ingreso al interior. Todo

esto mejora la sensibilidad y reproducibilidad de las medidas en GFAAS.

Este tubo es calentado por el pasaje de una corriente eléctrica controlada a través de una serie de pasos programados para remover el solvente y la mayor parte de componentes de la matriz. Luego se atomiza la muestra para generar vapores atómicos.

Todo el analito que se introduce en el tubo de grafito es atomizado; los átomos son retenidos en el tubo, y posicionados en el camino óptico por un período de tiempo mayor que en el caso del método que utiliza llama (FAAS), para lograr la atomización. Como consecuencia de esto, la sensibilidad y el límite de detección son muy bajos, del orden de partes por billón. Esto puede atribuirse principalmente al hecho de que el solvente no está presente al mismo tiempo que el analito, y a la ausencia de dilución que ocurre en FAAS por el gas portador.

Aunque el estado atómico está sujeto a interferencias, éstas son de una naturaleza distinta a las encontradas en la atomización por llama, y pueden ser controladas básicamente cambiando las condiciones analíticas y mediante la adición de modificadores de matriz, lo que minimiza la etapa de preparación de muestra y la introducción de errores.

5.5. CONTROL DE INTERFERENCIAS

Para una mejor comprensión de este tema, se lo ha dividido en dos categorías: interferencias espectrales e interferencias no espectrales.

5.5.1. Interferencias espectrales [1-3]

5.5.1.1. Emisión interferente

Ocurre cuando la radiación de un “cuerpo negro” alcanza el detector. Este problema se manifiesta por aumento de la señal variable (ruido) que disminuye el desempeño analítico.

El potencial observado para la emisión interferente se incrementa con la longitud de onda. Tal es el caso de elementos como el cromo, calcio o bario. La emisión interferente se controla primeramente con un diseño de la óptica del espectrómetro. El analista debe prestar particular atención a la alineación del camino óptico y al mantenimiento, ya que pueden ocasionar problemas de interferencias. Asimismo, la limpieza de las ventanas de los compartimientos es de especial importancia para evitar radiaciones de cuerpos negros. Finalmente, se debe considerar como un factor de suma importancia la temperatura de atomización, la cual no debe ser mayor que la requerida para atomizar en forma eficiente el analito. Esto último minimiza la radiación de cuerpos negros y prolonga la vida útil del tubo de grafito.

5.5.1.2. Absorción de fondo [2]

La interferencia espectral más importante son los problemas surgidos a partir de la absorción de fondo. Esta es una atenuación no específica de la luz a la longitud de onda del analito, ocasionada por componentes presentes en la matriz de la muestra. Estas bandas de absorción se deben normalmente a absorción molecular o a dispersión de la luz causada por compuestos sin disociar de la matriz en el camino óptico durante la atomización.

Como se trata de bandas de absorción, la probabilidad que se superponga con la longitud de onda del analito es significativa.

Las técnicas para controlar la absorción de fondo se aplican a casi todos los trabajos en GFAAS. Estas técnicas incluyen tratamiento de la muestra (ej., modificadores de

matriz) y compensación espectral por técnicas de corrección de fondo ópticas (técnica de corrección con lámpara de deuterio).

5.5.1.3. Métodos para corrección de las interferencias espectrales [2,3]

El propósito del paso de calcinación es volatilizar todos los componentes de la matriz antes de la atomización del analito. Si este proceso fuera 100% eficiente, no existiría absorción de fondo. Sin embargo, la remoción de la matriz durante la calcinación está limitada por la temperatura a la cual se pierden los átomos del analito.

El grado de remoción de la matriz durante la calcinación depende de la volatilidad relativa de los componentes de la matriz y el analito. Es deseable que la matriz sea más volátil que el analito, para que la mayor cantidad del mismo sea impulsado fuera durante la calcinación y que el analito no se pierda.

La volatilidad relativa de la matriz y el analito puede ser controlada por agregado de modificadores de matriz. Los procedimientos clásicos de modificadores de matriz involucran la adición de éste a la muestra que contiene el analito con el propósito de hacerlo menos volátil, y permite el uso de temperaturas de calcinación más altas para promover la remoción de la matriz.

El uso de mezclas de modificadores, como la de paladio y nitrato de magnesio, es recomendado para muchas determinaciones en horno de grafito. Dichas mezclas de modificadores proveen mejores resultados; sin embargo, no son de aplicación universal.

Otra estrategia para corregir interferencias espectrales es variar el volumen de inyección, cuando la sensibilidad no es una limitante. Volúmenes mayores contienen mayor cantidad de átomos del analito, mejorando la capacidad de detectar menores concentraciones del mismo. Sin embargo, volúmenes mayores contienen también mayores cantidades de otros componentes de la muestra. Cuando la absorción de fondo limita la calidad del análisis, es frecuente reducir el volumen de la muestra, para reducir los demás componentes que producen la absorción de fondo.

Otro procedimiento que minimiza la absorción de fondo es modificar el paso de calcinación en el programa del horno. Por ejemplo, se pueden usar distintas temperaturas de calcinación para remover los componentes que contribuyen a la absorción de fondo antes de la atomización del analito.

5.5.1.4. Corrección de fondo realizada en forma automática por el instrumento [2]

La corrección de fondo automática que primero se desarrolló fue la que emplea una fente continua para compensar la absorción de fondo residual. La fuente continua mide la contribución del fondo en el total de la señal. El instrumento elimina automáticamente la contribución de la señal de fondo no deseada.

La mayoría de los sistemas de corrección de fondo se pueden usar para correcciones de señales de fondo de hasta 2 unidades de absorbancia. Sin embargo, los mejores resultados analíticos se obtienen cuando la absorción de fondo se encuentra entre 0,5 y 1 unidades de absorbancia. Una mayor señal de fondo incrementa el nivel de ruido, y disminuye la precisión y exactitud de la medida.

El método más común para la corrección de fondo involucra el uso de una fuente continua de deuterio. Esta fuente opera en un rango desde 180 a 425 nm. La configuración óptica de la lámpara de cátodo hueco y la lámpara de deuterio es tal que ambas coinciden en el camino óptico, por lo que es de suma importancia que ambas lámparas se encuentren alineadas. Si esto no ocurre, las dos medidas no se realizarán sobre la misma población de átomos, lo que conlleva a errores significativos.

Las correcciones de fondo por Efecto Zeeman ofrecen ventajas significativas respecto de las correcciones por fuentes continuas.

El método para corrección de fondo por fuente continua posee las siguientes limitaciones:

- La intensidad de la fuente continua puede ser inadecuada.
- Determinadas absorciones de fondo causadas por ciertas absorciones moleculares estrechas no pueden ser corregidas adecuadamente.
- Se pueden introducir errores significativos.

Los sistemas con corrección de efecto Zeeman miden la señal de la absorción de fondo a la longitud de onda exacta donde ocurre la señal de la absorción atómica. Los sistemas de Zeeman corrigen absorciones de fondo mayores y más complicadas, y proveen resultados más precisos y exactos. También se pueden usar para todos los elementos y todas las longitudes de onda.

5.5.2. Interferencias no espectrales [2]

Las interferencias no espectrales resultan cuando diversos componentes de la matriz inhiben la formación de átomos libres del analito. Las interferencias no espectrales se representan generalmente de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$M^{\circ} + X^{\circ} \rightleftharpoons MX \quad (5.1)$$

donde: M° = átomos libres del analito y X° = átomos de algún componente de la matriz.

Históricamente, las interferencias no espectrales son tan comunes como las espectrales. Desafortunadamente, la compensación de las interferencias no espectrales no es tan sencilla como la de la corrección de fondo. A continuación, se indican algunos métodos para corrección de las interferencias no espectrales

5.5.2.1. *Uso de adiciones estándar*

En este método, se adiciona una cantidad conocida de analito a una alícuota de la muestra. Se determinan los valores de absorbancia de la muestra adicionada y de la muestra sin adicionar. Se grafican los resultados y se extrapolan para absorbancia 0. Se determina el contenido de analito en la muestra original.

El mayor problema de este método es que se debe asumir que los componentes de la matriz afectan la formación de átomos libres del analito de la misma manera que afectan a los que se encuentran presentes en la matriz adicionada. Desafortunadamente, esta afirmación frecuentemente no es válida.

5.5.2.2. *Superficie del tubo de grafito*

La naturaleza de la superficie del tubo de grafito es susceptible a ciertos tipos de interferencias no espectrales, especialmente a la formación de carburos. Algunos elementos tienden a formar carburos no volátiles que interaccionan con la superficie del tubo de grafito. Para reducir esta tendencia se usan superficies de grafito más densas, que se logran mediante revestimiento pirolítico.

5.5.2.3. *Plataforma L'vov*

El desarrollo de plataformas permitió alcanzar temperaturas de atomización más altas, lo que favorece la formación de átomos libres y mejora la sensibilidad analítica. Si se compara

la temperatura de atomización de una muestra para la cual transcurre la volatilización en la pared del tubo y otra en la que dicha volatilización ocurre en la plataforma del tubo, se observa que la temperatura de atomización sobre la plataforma se encuentra retrasada con respecto a la atomización en la pared del tubo. Dicho efecto puede observarse en la Figura 5.4. Esto permite que la volatilización del analito ocurra después que más partículas de gas en la fase estable hayan alcanzado esta condición.

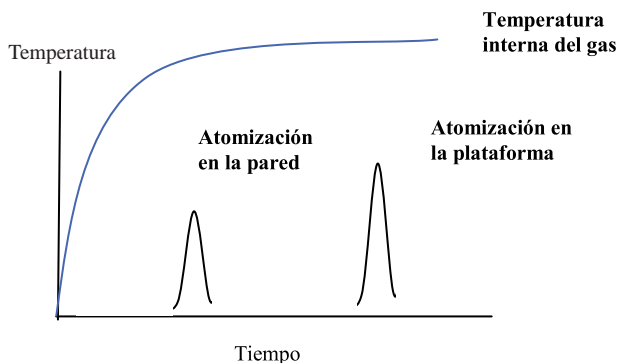


Figura 5.4. Perfiles de temperatura en la pared del tubo y sobre la plataforma.

5.5.2.4. Máximo poder de atomización

Mientras que el agregado de modificadores de matriz permite retrasar la atomización y alcanzar mayores temperaturas de atomización, otra técnica alternativa es calentar el horno en forma más rápida (conocido como máximo poder de atomización). Un calentamiento rápido incrementa la temperatura de la atmósfera del tubo de manera más rápida, y el analito se volatiliza en una atmósfera más caliente. Como resultado, se observa que está disponible mayor energía para atomizar la muestra con el consiguiente aumento de la cantidad de átomos libres y mejora de la sensibilidad. Sin embargo, cuando se usa un máximo de potencia, no se alcanza el equilibrio de temperaturas entre la atmósfera del tubo y la pared del mismo.

Una conjunción óptima se logra cuando se combinan los beneficios de un máximo de poder de atomización con el uso de plataformas de L'vov. Por incremento de la temperatura, se logra un máximo durante la atomización: la atmósfera y la pared del tubo se calientan mucho más rápido que la plataforma. Esto asegura la estabilización de la temperatura de la atmósfera cuando ocurre la volatilización del analito.

5.6. COMPARACIÓN DE MÉTODOS: ATOMIZACIÓN POR LLAMA Y POR HORNO DE GRAFITO. VENTAJAS Y DESVENTAJAS [2]

Comparando ambos métodos de análisis se observa que la llama ofrece resultados en tiempos más cortos (3 a 5 segundos), permite trabajar con volúmenes de muestra mayores y las interferencias que se presentan están a menudo bien documentadas.

Sin embargo, la mayor limitación de la absorción atómica utilizando llama (FAAS) como método de atomización es que el sistema de atomización es relativamente ineficiente cuando se posiciona la muestra en el sistema atomizador. Sólo una pequeña fracción (cerca del 10%) de la muestra es aspirada hacia la atomización y alcanza la llama. Además, la muestra es diluida con grandes volúmenes de gases, los cuales transportan el aerosol dentro de la llama. Este proceso está gobernado por muchas variables de difícil control,

que influyen además en el tiempo de residencia de los átomos, siendo éste un período corto de tiempo. Esto limita la concentración mínima que se puede determinar en llama y, por lo tanto, los niveles de detección alcanzados (niveles menores al mg L^{-1}), adecuados para muchos analitos en muestras biológicas y ambientales.

La sensibilidad analítica puede mejorarse significativamente si, al ingresar, la muestra se atomiza de una sola vez y los átomos remanentes en el camino óptico permanecen por un período de tiempo más prolongado. Estas mejoras en la sensibilidad son alcanzadas en la técnica de absorción atómica por atomización electrotérmica (GFAAS).

Otra ventaja de suma importancia en GFAAS consiste en la posibilidad de trabajar con volúmenes pequeños de muestras, y descender así a partes por billón los límites de detección para muestras biológicas y ambientales.

Dentro de las limitaciones que se encuentran en GFAAS se observa la menor precisión y el mayor número de interferencias. El efecto en la precisión es consecuencia de trabajar con volúmenes de inyección pequeños

5.7. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO EN AGUA POR EL MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON HORNO DE GRAFITO [4, 5]

5.7.1. Aplicación

5.7.1.1. Este método es aplicable a la determinación de arsénico a todo tipo de muestras de agua superficiales, subterráneas y potables.

5.7.1.2. El límite de detección es $1,0 \mu\text{g As L}^{-1}$ y el límite de cuantificación es $5,0 \mu\text{g As L}^{-1}$.

5.7.1.3. Mediante este método se puede determinar el arsénico en un rango de 5 - 40 $\mu\text{g As L}^{-1}$ y, por dilución, mayores concentraciones.

5.7.2. Resumen del método

El principio del método, como se indicó anteriormente, se basa en la absorción de luz por parte de un elemento en estado atómico. La longitud de onda a la cual la luz es absorbida es específica de cada elemento ($\lambda = 193,7 \text{ nm}$ para el As), siendo la cantidad de radiación absorbida proporcional a la cantidad de átomos del elemento presentes.

Involucra fundamentalmente 2 procesos: la atomización de la muestra y la absorción de radiación proveniente de una fuente por los átomos libres.

El tratamiento de la muestra hasta la atomización consta de las siguientes etapas:

1. Secado: la muestra inyectada (2-20 μL) en el horno de grafito es sometida a una temperatura algo inferior al punto de ebullición del solvente (80-180 °C). Aquí se evaporan el solvente y los componentes volátiles de la matriz.

2. Calcinación o incineración: en esta etapa, la temperatura es elevada para eliminar la materia orgánica (350-1300 °C).

3. Atomización: en esta etapa, el horno es calentado rápidamente, de manera de pasar al analito al estado atómico (1800-2800 °C).

Usualmente se agrega una cuarta etapa para limpieza del horno a alrededor de 3000 °C.

Cuanto mejor sea la separación de elementos concomitantes del analito antes de la atomización, la determinación estará más libre de interferencias. La eficiencia de la separación depende de la volatilidad del elemento en comparación con los concomitantes.

5.7.3. Precauciones de seguridad

- Se requieren guantes de látex para el manejo de las muestras, lentes de seguridad y túnicas.
- La manipulación de ácidos concentrados debe realizarse bajo una campana de extracción de gases, considerando todas las medidas de seguridad para su uso.
- Se debe realizar una buena higiene de manos luego de manipular todas estas soluciones.

5.7.4. Precauciones técnicas

1. Con las soluciones: condiciones de almacenamiento adecuadas y vida útil de las mismas.
2. Con los materiales a emplear:
 - Asegurarse de que estén verificados y en buenas condiciones.
 - La solución madre de arsénico estándar certificado, disponible comercialmente, debe usarse dentro de su tiempo de vigencia.
 - Buenas prácticas empleadas en la técnica analítica: antes de la realización del análisis se realiza una verificación del equipo mediante la lectura de blancos y soluciones patrón.
 - El material de polipropileno no se reusa.
 - El material de vidrio debe descontaminarse con una solución de HNO_3 comercial al 10% (vida útil de 90 días) durante 24 horas y posterior enjuague con agua destilada y luego bidestilada.

5.7.5. Interferencias

Para el control de interferencias se utiliza el método de adición estándar (para eliminar interferencias introducidas por la matriz), el uso de un modificador de matriz (solución de PdCl_2 50 mg L^{-1}) y hornos de grafito con plataforma.

5.7.6. Instrumental/materiales

Espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito, marca Varian, modelo Spectr AA 55B con corrección de lámpara de deuterio o equivalente.

- Unidad GTA 110.
- Spectra AA versión 4.00
- Tubos de grafito con plataforma
- Lámpara de cátodo hueco de arsénico
- Pipetas aforadas clase A de 10 mL
- Matraces aforados de 50 mL, 100 mL y 500 mL clase A
- Pipetas automáticas de 10 a 100 μL y de 100 a 1000 μL
- Tubos de polipropileno con tapa de 10 mL
- Viales de polipropileno de 1 mL
- *Tips* de polipropileno de 200 μL y de 1000 μL
- Nitrógeno ultrapuro (pureza > 99,99%)

5.7.7. Reactivos

5.7.7.1. Tipos de reactivos

- Estándar certificado de arsénico 1000 mg L^{-1}

- Modificador: PdCl_2 2000 mg L^{-1}
- Agente reductor: ácido ascórbico (ppa o ACS)
- HCl Suprapur
- Agua Ultrapuro tipo I (ASTM) o agua destilada libre de As
- Tritón X-100

5.7.7.2. Almacenamiento de reactivos, soluciones y otros:

Se conservan a temperatura ambiente, excepto el PdCl_2 que se almacena a 4 °C.

5.7.8. Calibración del equipo

Debe ser llevada a cabo por el servicio técnico de mantenimiento de acuerdo a lo establecido en el programa de calibración correspondiente.

5.7.9. Calibración del método

La calibración del método se logra por adiciones estándares sobre la muestra en la posición 1 del muestreador automático. Las concentraciones y cantidades de reactivos se indican en la Tabla 1:

Tabla 1. concentraciones y cantidades de reactivos para la calibración del método de absorción atómica con horno de grafito

Adición	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Volumen (μL) Blanco HCl 0,5%	Volumen estándar de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ (μL)	Volumen de PdCl_2 50 mg L^{-1} (μL)	Muestra (μL)
Blanco Reactivo	0,0	18,0	0,0	16	0,0
Adición 1	10,0	7,0	1,0	16	10,0
Adición 2	20,0	6,0	2,0	16	10,0
Adición 3	40,0	4,0	4,0	16	10,0

Una vez realizado el programa de inyecciones, se ajusta la curva de calibración con un modelo lineal.

5.7.10. Muestreo y preservación

Para las muestras de agua se utilizan recipientes de polipropileno o polietileno, acidificadas ($\text{pH} < 2$) con HCl 0,2%. Deben ser refrigeradas hasta el momento del análisis a 4 °C.

5.7.11. Procedimiento de análisis

- 5.7.11.1. Llevar las muestras a ser analizadas a temperatura ambiente.
- 5.7.11.2. Preparar HCl 2% como solución de enjuague utilizado por el sistema de inyección del equipo. Vida útil: 1 mes almacenada a temperatura ambiente.
- 5.7.11.3. Abrir el tanque de N_2 .
- 5.7.11.4. Encender el equipo de absorción atómica de acuerdo al instructivo del Sistema de Gestión de Calidad (SGC).
- 5.7.11.5. Colocar en el equipo la solución de enjuague HCl 2%.
- 5.7.11.6. Preparar la solución blanco (HCl 0,5%). Vida útil: 1 mes almacenada a temperatura ambiente.

5.7.11.7. Preparar 10 mL de estándar de As de 10 mg L^{-1} en HCl 0,5% en tubo de polipropileno ($100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de estándar certificado de As 1000 mg L^{-1} en 10,00 mL de HCl 0,5%). Vida útil: 1 mes almacenada a temperatura ambiente.

5.7.11.8. Cada vez que se procesan muestras, se preparan 20 mL de una solución estándar de As $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ en HCl 0,5% en tubos de polipropileno (se toman $100 \text{ } \mu\text{L}$ de la solución de As 10 mg L^{-1} y se lleva a volumen con HCl 0,5%).

5.7.11.9. Preparación de controles internos (muestras fortificadas en $20 \text{ } \mu\text{g As L}^{-1}$): se realizan fortificaciones de las muestras utilizando el estándar de As de $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (se toman $200 \text{ } \mu\text{L}$ de la muestra + $200 \text{ } \mu\text{L}$ de estándar de As de $100 \text{ } \mu\text{L}$ + $800 \text{ } \mu\text{L}$ de modificador de matriz).

5.7.11.10. Registrar la preparación de soluciones en el cuaderno de laboratorio, indicando la trazabilidad de la misma (fecha de preparación, fecha de vencimiento, analista, concentración).

5.7.11.11. Abrir una hoja nueva de trabajo del Programa Spectr AA con la fecha correspondiente al día de trabajo.

5.7.11.12. Registrar las muestras a analizar en el cuaderno de laboratorio y pasar los datos a la hoja de trabajo abierta.

5.7.11.13. Preparar modificador de matriz (ácido ascórbico – Tritón X-100): 1 mL de Tritón X-100 + 5 mL de solución de ácido ascórbico al 5%. Llevar a volumen con agua destilada en matraz aforado de 100 mL.

5.7.11.14. Colocar las muestras en los viales diluidas 1/5 con modificador de la matriz ($200 \text{ } \mu\text{L}$ de muestra + $800 \text{ } \mu\text{L}$ de modificador) y éstos en sus correspondientes posiciones. Homogeneizar la solución, cargando y descargando con la pipeta automática dentro del vial 5 veces.

5.7.11.15. Al iniciar el lote de análisis colocar un blanco de reactivos (colocando en un vial modificador de matriz). Cada 10 muestras se debe incluir un control interno y el duplicado de una muestra al azar como control de repetibilidad (ver más adelante).

5.7.11.16. En el muestreador se colocan en distintos recipientes: 20 mL de estándar de As $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, 20 mL de blanco reactivo (HCl 0,5%) y 20 mL de la solución de PdCl_2 50 mg L^{-1} .

5.7.11.17. Antes del inicio del análisis realizar un chequeo del equipo:

- Purga del inyector
- Acondicionamiento del tubo de grafito
- Alineación de la posición del capilar
- Alineación de la lámpara de cátodo hueco
- Optimizar el porcentaje de ganancia de las lámparas (cátodo hueco y deuterio)

5.7.11.18. Verificar las condiciones instrumentales del equipo:

- Longitud de onda: $193,7 \text{ nm}$
- Ancho de rendija: $1,0 \text{ nm}$
- Gas: nitrógeno
- Ganancia: 45%
- Intensidad de Corriente: $11,0 \text{ mA}$

5.7.11.19. Ejecutar la corrida de acuerdo al instructivo del laboratorio del SGC, sometiendo las muestras al programa de temperatura según indica la Tabla 2:

Tabla 2. Programa de temperatura para arsénico en agua

Etapa N°	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Flujo gas (L min ⁻¹)	Tipo de gas	Comando de lectura
1	85	5.0	3.0	N ₂	No
2	95	40.0	3.0	N ₂	No
3	120	10.0	3.0	N ₂	No
4	1400	5.0	3.0	N ₂	No
5	1400	1.0	3.0	N ₂	No
6	1400	2.0	0.0	N ₂	No
7	2600	0.6	0.0	N ₂	Sí
8	2600	2.0	0.0	N ₂	Sí
9	2700	2.0	3.0	N ₂	No

5.7.11.20. Para cada una de las adiciones estándares y las muestras se realizan 3 inyecciones. Para cada muestra se obtiene la desviación estándar relativa (RSD) correspondiente.

5.7.11.21. Imprimir el informe, seleccionando el menú “Informes”. El reporte se archiva en la carpeta correspondiente.

5.7.11.22. Cerrar la llave del tanque de N₂.

5.7.12. Procedimiento de análisis

Cálculos:

1. Preparar una curva de calibración en agua por el método de adiciones estándar en el rango comprendido entre 5 - 40 µg L⁻¹.
2. Realizar un ajuste “lineal” para la curva de calibración.
3. El programa realiza automáticamente los cálculos correspondientes, determinando la concentración de arsénico presente en las muestras, el RSD y la concentración característica (C) de la corrida.
4. Se deben calcular los porcentajes de recuperación para los controles internos (%R) y la repetibilidad del ensayo, de acuerdo a:

$$\%R = [\text{concentración encontrada} / \text{concentración fortificada}] \times 100 \quad (5.2)$$

$$\text{Repetibilidad} = [(\text{valor abs}(\text{concentración muestra} - \text{concentración muestra duplicado})) \times 100] / \text{promedio de las concentraciones duplicadas} \quad (5.3)$$

Expresión de los resultados:

Los resultados deben ser expresados con una cifra decimal después de la coma.

Para los valores cuya concentración sea menor a 1,0 µg L⁻¹, se informa “no detectable”. Para las concentraciones entre 1,0 µg L⁻¹ y 5,0 µg L⁻¹ se informa “< 5,0 µg L⁻¹” (límite de cuantificación).

Controles:

El analista considera aprobada la corrida de análisis cuando:

- La curva de calibración presenta un R² > 0,995.
- La concentración del blanco de reactivos es < a 1 µg L⁻¹.
- El resultado obtenido en el control interno (muestra fortificada) debe encontrarse en un porcentaje de recuperación entre 85 - 105%.
- El RSD de cada muestra es < a 5%.

- Los controles de repetibilidad son $< 10\%$.

De no alcanzarse estos parámetros, se consulta con el Jefe del Laboratorio, quien determina los pasos a seguir.

5.7.13. Registros

- Informe Spectr AA
- Cuaderno de laboratorio
- Cuaderno de "Preparación de Estándares"
- Carpeta GFAAS "As"
- Registro de Trabajos "No Conforme"

5.7.14. Exactitud del método

La exactitud del método se asegura por medio de muestras certificadas con una periodicidad al menos anual o cuando se revalide el método. Se analiza la muestra de acuerdo a lo establecido en el presente procedimiento, y su concentración se compara con la establecida en el certificado. El porcentaje de recuperación debe encontrarse dentro de los criterios de aceptación definidos en el punto 5.7.12.

5.7.15. Estudio de la repetibilidad

Para el análisis en serie de muestras se analiza una muestra de cada 10 por duplicado. Se calcula la repetibilidad de la misma. Ésta debe encontrarse dentro de los límites de aceptación y rechazo establecidos en el punto 5.7.12 del presente procedimiento. Este parámetro es un elemento de entrada para la determinación de la competencia técnica de los analistas.

5.7.16. Adición de estándar o muestras fortificadas

A una de cada 10 muestras analizadas se le adiciona una concentración conocida de estándar de arsénico. El porcentaje de recuperación debe encontrarse dentro de los límites de aceptación y rechazo establecidos en el punto 5.7.12 del presente procedimiento.

5.7.17. Control de blancos

En cada lote de análisis se analiza un blanco de reactivos. La concentración de este blanco debe ser menor al límite de detección del método.

REFERENCIAS

1. D. A. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman (2001), Cap. 9, "Principios de Análisis Instrumental", págs. 219-244, Mc. Graw Hill, Madrid, España.
2. R.D. Beaty y J.D. Kerber, "Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry", 1ª Ed. PerkinElmer™ Instruments, 2003, Connecticut, Estados Unidos.
3. "Method 200.9 Trace Elements in Water, Solids, and Biosolids by Stabilized Temperature Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry" (2001) 821-R-01-011.
4. Método 3113- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association (APHA) 20th Edición (1998) 3-24 al 3-31.
5. Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers. Varian, 1998.

Capítulo 6

Espectroscopía de emisión – plasma inductivo de argón

SILVIA S. FARÍAS

6.1. INTRODUCCIÓN [1]

La espectroscopía de emisión (OES) se basa en la producción y detección de espectros de línea emitidos durante el proceso de desexcitación radiativa de electrones que sufren transiciones entre niveles excitados superiores y niveles excitados inferiores. Esos electrones pertenecen a las órbitas externas de los átomos y se llaman **electrones ópticos**. Los espectros de líneas son específicos de cada elemento y la adecuada selección de una línea y su aislamiento por medio de un sistema dispersivo permite al analista verificar la presencia de ese elemento y determinar su concentración. Un espectrómetro de emisión atómica mediante plasma inductivo de argón consiste en una fuente de radiación, un sistema de presentación e/o introducción de la muestra, un sistema óptico dispersivo, un detector y la correspondiente electrónica para adquisición, procesamiento y edición de resultados, como se muestra en el esquema de la Figura 6.1.

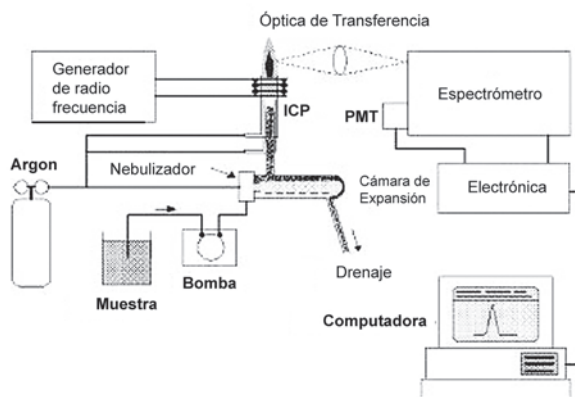


Figura 6.1. Componentes principales y esquema típico de un ICP-OES.

Cada elemento de la tabla periódica tiene un determinado número de electrones igual a su número atómico. Los electrones tienen la posibilidad de estar localizados en capas y subcapas alrededor del núcleo de acuerdo con la teoría cuántica. La teoría cuántica asume que la energía electromagnética es emitida o absorbida en valores discretos, lo que significa que la energía es discontinua.

Al absorber energía, el electrón es promovido a estados energéticos superiores y cuando regresa al estado fundamental o inferior, ocurre la desexcitación radiativa, por desexcitación o por procesos colisionales. En el caso de la desexcitación radiativa, hay emisión de radiación electromagnética. Si la transición ocurre entre el nivel superior E_m y el nivel inferior E_k , la radiación emitida tiene una frecuencia ν dada por:

$$h\nu = E_m - E_k \quad (6.1)$$

donde h es la constante de Planck. En espectroscopía de emisión atómica, la longitud de onda, λ , se usa habitualmente en vez de la frecuencia, ν , siendo:

$$\lambda = c/\nu \quad (6.2)$$

donde c es la velocidad de la luz. La longitud de onda se expresa en nm (nanómetros, 10^{-9} m) (Figura 6.2).

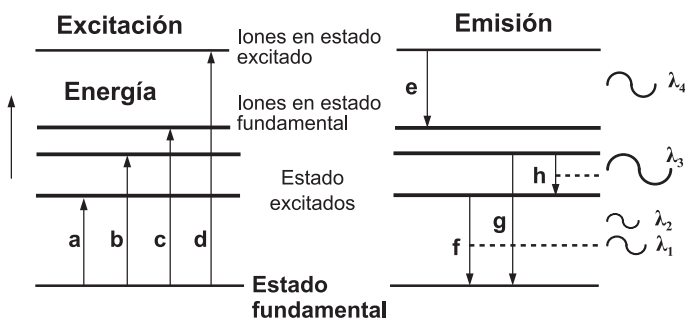


Figura 6.2. Diagrama de niveles de energía que representa las transiciones energéticas, donde a y b representan excitación; c, ionización; d, ionización/ excitación; e, emisión de la especie iónica y f, g y h, emisiones atómicas.

Se debe hacer notar que las transiciones correspondientes a un electrón que retorna al estado fundamental se denominan transiciones de resonancia y dan origen a líneas de resonancia. De acuerdo con reglas de selección y posibles estados excitados, cada elemento de la tabla periódica puede exhibir un conjunto de líneas (espectro) que es específico para ese elemento (Figura 6.3).

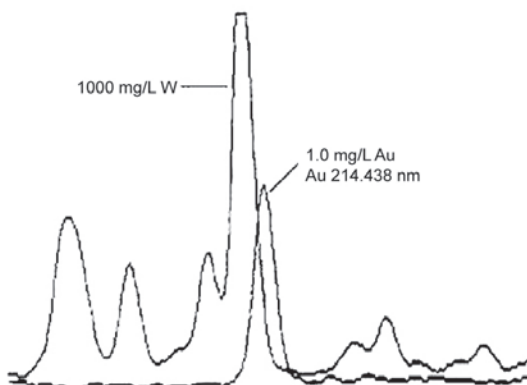


Figura 6.3. Espectros superpuestos de una matriz de tungsteno, con sus líneas características, que interfiere la línea de Au 267.595 nm

La presencia de una combinación de líneas de un elemento permite el análisis cualitativo (Figura 6.4).

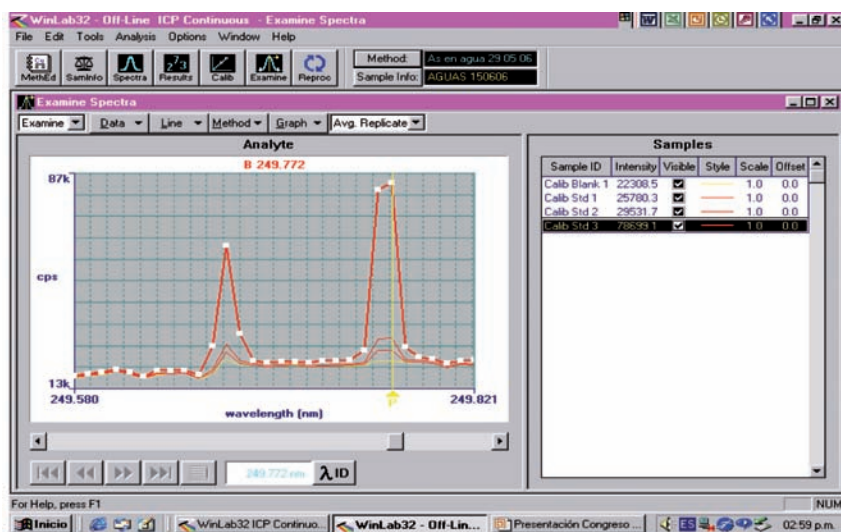


Figura 6.4. Espectro de emisión del boro en el que se visualizan dos de sus líneas, la línea B I 249.677 nm y B I 249.772 nm (tomado de la pantalla de un equipo Perkin Elmer OPTIMA 3100 XL).

Se debe resaltar que para líneas emitidas por átomos se usa el símbolo I y para líneas emitidas por átomos simplemente ionizados se usa el símbolo II.

Por ejemplo, para el átomo de aluminio, Al, hay 46 niveles electrónicos por debajo de los límites de ionización, correspondientes a 118 líneas en el ámbito que va desde 176 a 1000 nm. Hay 226 niveles para un átomo simplemente ionizado de Al (Al^+), lo que conduce a aproximadamente a 318 líneas en la zona que va desde 160 a 1000 nm. Al I y Al II son especies que emiten espectros relativamente simples. En el mismo ámbito de longitudes de onda, el uranio, U, puede emitir decenas de miles de líneas, lo que conduce a uno de los espectros más complejos que pueden ser observados. Sin embargo, si bien las líneas de resonancia pueden ser observadas en cualquier fuente de radiación, las líneas originadas de estados altamente excitados pueden ser observadas sólo a partir de fuentes de radiación de alta temperatura o bajo condiciones específicas de excitación.

Se debe destacar que la radiación de fondo es la emitida por la muestra cuando están presentes todos los componentes excepto el analito. La emisión de fondo consiste en la radiación emitida por todos los otros elementos (analitos, concomitantes) presentes en la muestra, que emiten sus propios espectros, y de un continuo que se origina en un conjunto de fuentes incluyendo electrones, Ar, OH, y especies presentes en la matriz, tanto atómicas como moleculares (2).

6.2. ANÁLISIS CUANTITATIVO [2, 3]

Es posible realizar un análisis cuantitativo si la intensidad de la línea puede ser relacionada con la concentración de las especies emisoras. La intensidad de la línea es proporcional a:

1. La diferencia de energía entre el nivel superior, $E_m - E_k$, y el nivel inferior, E_k , de la transición.

2. La población de electrones, n_m , en el nivel superior, E_m .
3. El número de transiciones posibles entre E_m y E_k por unidad de tiempo. Este valor es expresado por la probabilidad de transición A , definido por Einstein.

De esta manera, la intensidad es proporcional a:

$$I = (E_m - E_k) \times A \times n_m \quad (6.3)$$

En la espectroscopía de emisión atómica (OES), la fuente de excitación tiene realmente dos roles: el primer paso consiste en la atomización de la muestra a ser analizada, con el propósito de obtener átomos libres, usualmente en el estado fundamental; el segundo consiste en la excitación de los átomos a estados de energía superiores (Figura 6.5). Una fuente ideal usada para espectroscopía de emisión debe tener un excelente desempeño analítico y eficientes características instrumentales.

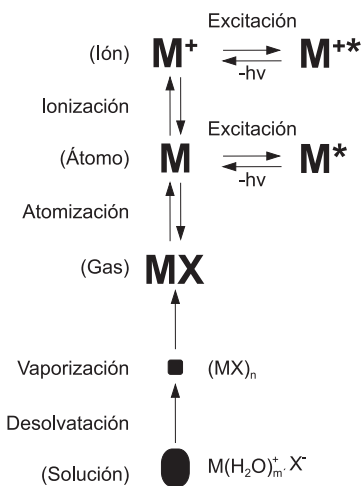


Figura 6.5. Proceso que tiene lugar cuando una gota de muestra es introducida en la descarga de plasma.

6.3. PLASMA INDUCTIVAMENTE ACOPLADO [2, 3]

Un plasma es un gas ionizado, macroscópicamente neutro, con el mismo número de partículas positivas (iones) y negativas (electrones). Un plasma conserva algunas propiedades de los gases ideales, como las referentes a la presión y al volumen, en contraste con otras propiedades tales como la viscosidad y la conductividad térmica, que difieren significativamente de las de los gases ideales debido a la presencia de partículas cargadas (Figuras 6.5a y 6.5b).

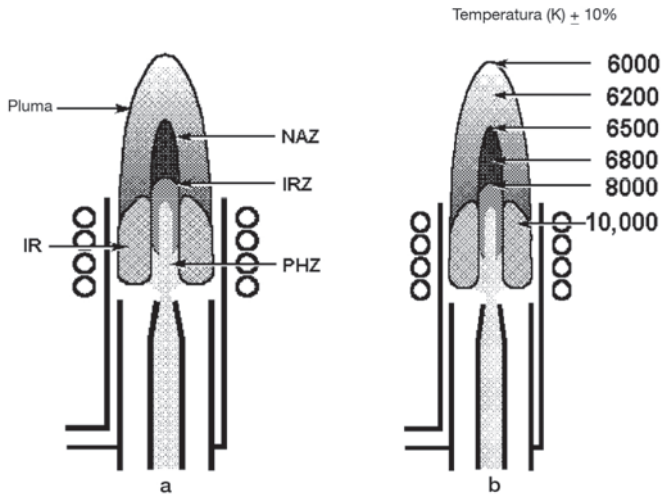


Figura 6.6. a) Zonas del ICP. IR: región de inducción; PHZ: región de precalentamiento; IRZ: zona de radiación inicial; NAZ: zona analítica normal. b) Temperatura de distintas regiones en una descarga de plasma típica.

En contraste con la espectroscopía de llama, es necesario proveer energía externa en forma de campo magnético para poder ionizar al gas que sustenta al plasma, que a su vez va a transmitir parte de su energía a la muestra para atomizarla y excitarla. Los plasmas se clasifican de acuerdo a la clase de campo eléctrico que se use para crear y mantener al plasma:

- Plasma de acoplamiento inductivo (ICP): se obtiene cuando se aplica un campo de alta frecuencia a través de una bobina.
- Plasma inducido por microondas (MIP): se obtiene cuando se aplica un campo de microondas a una cavidad.

La fuente más utilizada es el ICP. Se usa un generador de alta frecuencia (27,12 ó 40 MHz) para producir el campo de alta frecuencia a través de la bobina de inducción. La potencia debe ser del orden de 1-2 kW, y su estabilidad es un parámetro crucial para evitar cualquier alteración en las propiedades del plasma (Figura 6.7). El generador debe ser lo suficientemente flexible como para compensar cualquier variación de la impedancia del plasma debido a cambios en su carga, por ejemplo, durante la inyección de distintos tipos de soluciones, acuosas u orgánicas.

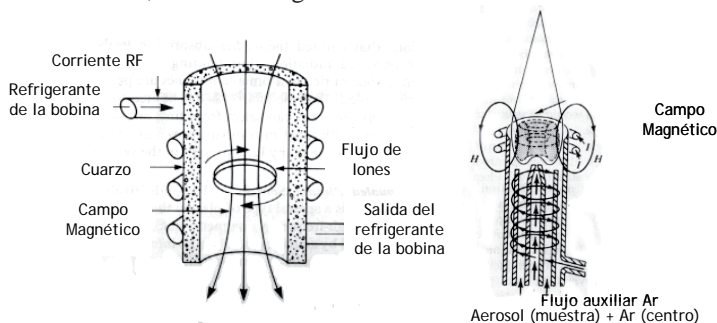


Figura 6.7. Cortes de la antorcha y procesos asociados a la descarga.

El gas usado para generar el plasma (gas del plasma) es argón; como cualquier gas noble, es monoatómico y tiene altas energías de ionización (15,76 eV), y es químicamente inerte (Figura 6.8). Por lo tanto, emite un espectro muy simple en contraste con la llama, en donde se observan primariamente espectros moleculares, y tiene la capacidad de excitar e ionizar a la mayoría de elementos de la tabla periódica. No se forman compuestos estables entre el argón y los analitos.

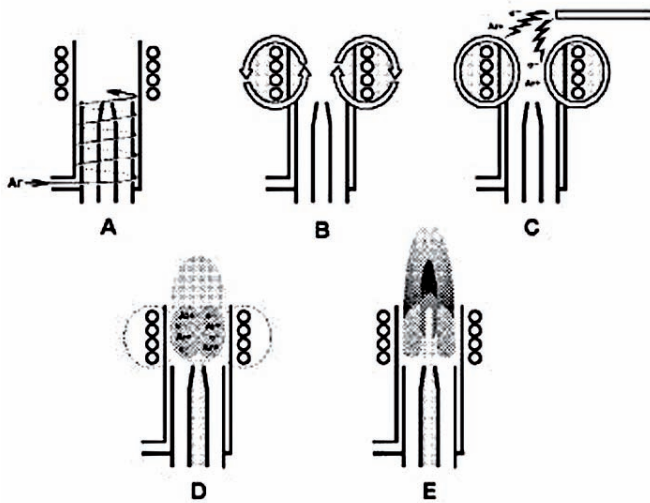


Figura 6.8. Corte de una antorcha y de la bobina de inducción asociada, que muestran una secuencia de ignición. a) El argón entra en vórtice a la antorcha; b) se aplica radiofrecuencia a la bobina de carga; c) una chispa produce algunos electrones libres en el argón; d) los electrones libres se aceleran por el campo de radiofrecuencia causando mayor ionización y formando el plasma; e) la muestra en forma de niebla es arrastrada por el gas de nebulización golpea y “agujerea” el plasma, formando el canal de la descarga.

6.4. INTERFERENCIAS [2]

En química analítica se define como interferencia a cualquier fenómeno que cause que la señal proveniente del analito en una muestra sea diferente a la señal del analito al mismo nivel de concentración en la solución de calibración. Aunque se sabe que la presencia de una interferencia puede producir efectos devastadores en la exactitud de una determinación, también se reconoce que no existen técnicas analíticas que estén completamente libres de interferencias. Sin embargo, los espectrómetros modernos han sido diseñados para minimizar estos efectos.

Cuando se introdujo el ICP en la comunidad analítica, se manifestó que la técnica estaba prácticamente libre de interferencias, ya que en el ICP no se observaban las clásicas interferencias químicas típicas de la espectrometría de absorción atómica de llama. Poco después de haber comenzado el desafío que supone el análisis de trazas en una amplia variedad de muestras, la existencia de interferencias se volvió una realidad. Actualmente, se conoce que las interferencias de mayor peso en ICP son las interferencias espectrales. Se sabe que la mayoría de las especies que existen en la descarga o que son introducidas en ella emiten una considerable cantidad de líneas o bandas que dan como resultado un espectro algo complejo. De esta manera, la selección de una línea espectral para la determinación de elementos a nivel de trazas se hace dependiente de las características

espectrales y de la ausencia de líneas de concomitantes en la longitud de onda en la que emite el analito, en nuestro caso el arsénico. Ninguna línea espectral está nunca totalmente libre de interferencias de otras características espectrales a la precisa longitud de onda de su/s máximo/s de emisión.

Las interferencias espectrales se producen ya que los espectros originados en la descarga de plasma son muy ricos en líneas, y las interferencias se dan por el solapamiento de líneas del mismo o de otro elemento con las del analito. Para evitar este tipo de error se requiere un conocimiento de todos los componentes que previsiblemente pueden estar presentes en la muestra.

Las interferencias espectrales pueden clasificarse en tres grandes grupos:

1. Solapamiento de líneas espectrales: este es el caso en el que líneas espectrales, tanto atómicas como moleculares, se solapan directamente con la línea del analito. El solapamiento parcial de las líneas del analito con las “alas” de otras líneas, resultantes de ensanchamientos espectrales e instrumentales es un hecho bien conocido y común, que puede atribuirse a la alta temperatura del plasma, que conlleva un incremento del efecto Doppler. Los procesos colisionales, tales como la resonancia y el efecto Stark también contribuyen al ensanchamiento de las líneas espectrales.
2. Variación del fondo continuo: el fondo continuo del plasma de argón es una característica dinámica del espectro observado, y el nivel y la estabilidad de ese fondo continuo son afectados por los solventes y los elementos concomitantes presentes en la matriz en estudio.
3. Luz dispersa: la luz dispersa es aquella que llega al detector proveniente de longitudes de onda que están fuera del ancho de banda o instrumental. En espectrometría de emisión atómica, la luz dispersa puede tener dos orígenes diferentes, a saber, la intensa emisión de las especies fácilmente ionizables presentes en alta concentración en el ICP y las imperfecciones del sistema óptico.

El resto de las interferencias proviene generalmente de la presencia de altas concentraciones de ciertos elementos o compuestos en la matriz de la muestra y no son demasiado severas para la mayor parte de las muestras.

En las fuentes de plasma, las interferencias químicas y de matriz son mucho menores que en el caso de otras técnicas espectroscópicas. Sin embargo, cuando la concentración de los analitos es pequeña, se torna muy intensa la emisión de fondo causada por la recombinación de iones argón con electrones libres presentes en la descarga y se hace necesaria la aplicación de correcciones.

También se registran interferencias de Ar, el gas de la descarga, y de las especies predominantes en el plasma, H₂O (presente en el gas del plasma o por inyección de soluciones acuosas) y de N₂ (porque puede estar presente en el presente en el gas del plasma o en el solvente). Después de la disociación en el entorno de alta temperatura del plasma, esas especies generan NH, OH, N₂⁺, NO, que se excitan para producir la emisión de bandas vibracionales y rotacionales. Estas bandas se distribuyen en el espectro desde la región UV (ultravioleta) hasta la NIR (infrarrojo cercano).

6.5. ESPECIFICACIONES DEL INSTRUMENTO

Para el análisis elemental, un instrumento debe cumplir varias especificaciones con el objetivo de poder obtener un desempeño analítico apropiado y proporcionar mediciones confiables y exactas. El desempeño analítico incluye la calidad de los resultados y la calidad del sistema. La calidad analítica de los resultados está relacionada con la certeza y con la precisión.

La calidad analítica de un sistema incluye:

- El número de elementos que pueden ser determinados por el método.
- Estabilidad a largo plazo.
- Selectividad.
- Robustez.
- Sensibilidad y bajos límites de detección.
- Linealidad y rango dinámico.

Las características instrumentales ideales están relacionadas tanto con el aspecto operacional como con el económico. Entre las características instrumentales podemos mencionar:

- Facilidad de operación.
- Facilidad en el mantenimiento.
- Automatización completa.
- Posibilidad de introducir muestras sólidas, líquidas y gaseosas.
- Bajo consumo de muestra, si lo hay, pues puede tratarse de un ensayo no destructivo.
- Tamaño reducido del equipo.

Los aspectos económicos incluyen:

- Alto nivel de procesamiento de muestras (*high sample throughput*).
- Confiabilidad.
- Seguridad.
- Baja inversión de capital.
- Bajo costo de operación.

El desempeño analítico incluye el número de elementos que se pueden determinar, la exactitud (relacionada con la precisión y la certeza), la selectividad, la ausencia de interferencias físicas y químicas, la estabilidad a largo tiempo, el ámbito lineal dinámico y los límites de detección. Además, un sistema de emisión debe ser capaz de poder utilizarse con cualquier tipo de muestras, sin tener en cuenta su forma, o si es líquida o gaseosa, con la posibilidad de emplear poca cantidad de muestra. Las características del instrumento deben incluir, facilidad para operar, poco mantenimiento, automatización, confiabilidad, alto número de muestras procesadas/ hora y tamaño del instrumento. Se deben considerar también la inversión inicial y los costos de operación.

6.6. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO SOLUBLE EN AGUA MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE EMISIÓN ATÓMICA – PLASMA INDUCTIVO DE ARGÓN [4, 5]

SECCIÓN A. PROCEDIMIENTO

6.6.1. Aplicación

6.6.1.1. Este método es aplicable a la determinación de arsénico soluble en muestras de agua potable, superficial, subterránea y residual.

6.6.1.2. El límite de detección es 0,003 $\mu\text{g As mL}^{-1}$ y el límite de cuantificación es 0,010 $\mu\text{g As mL}^{-1}$.

6.6.1.3. Mediante este método se puede determinar el arsénico soluble en un rango de 0,010 y 1,00 $\mu\text{g As mL}^{-1}$, y por dilución, mayores concentraciones de ese metaloide.

6.6.2. Resumen del método

La descarga de plasma (ICP) tiene como objeto proveer energía externa en forma de campo magnético para poder ionizar al gas que sustenta al plasma, que a su vez va a transmitir parte de su energía a la muestra que entra a la antorcha a través de un nebulizador en forma de fina niebla, para atomizarla (obtener átomos libres usualmente en el estado fundamental), y posteriormente excitar a los átomos a estados de energía superiores. Esos átomos excitados, al decaer, sufren una desexcitación radiativa con la consecuente emisión de radiación electromagnética, característica del átomo o ion emisor. La intensidad de la señal emitida es función de la concentración del analito en el canal de la descarga del plasma, por lo que también se puede realizar una determinación cuantitativa del analito de interés. Para el caso específico del As, la desexcitación del metaloide produce, entre otras, dos líneas de átomo, medianamente sensibles, localizadas en el UV lejano (As I 188,979 y As I 193,696 nm, respectivamente), la primera de las cuales no presenta prácticamente interferencias espectrales. Los espectros obtenidos permiten identificar al As a través de su longitud de onda y, mediante la integración del área bajo la curva correspondiente a cada línea espectral, la concentración de arsénico soluble presente en el agua.

6.6.3. Precauciones de seguridad y técnicas

6.6.3.1. Precauciones de seguridad

- Se deben utilizar guantes de nitrilo para el manejo de las muestras, ya que existe la posibilidad de presencia potencial de especies arsenicales orgánicas que atraviesan los guantes de látex. Se deben emplear también lentes de seguridad y guardapolvos adecuados que cubran completamente la ropa.
- La manipulación de ácidos concentrados y solventes debe realizarse bajo una campana, y se debe evitar la inhalación, ingestión y el contacto con la piel.
- Se deben lavar bien las manos luego de manipular soluciones arsenicales.

6.6.3.2. Precauciones técnicas

- Las soluciones madre de As, a partir de las cuales se realizan las diluciones diariamente, deben ser almacenadas preferentemente a 4 °C.
- El material de referencia de As sólo debe usarse en el período de vigencia impuesto por el fabricante.
- El material de vidrio debe estar calibrado por un proveedor de calibraciones acreditado o se debe realizar en el laboratorio siguiendo lineamientos provistos por normas internacionales.
- Antes de la realización del ensayo, se debe realizar una verificación del equipo mediante la lectura de blancos y soluciones patrón.
- El material de polipropileno no debe ser reusado.
- Los materiales utilizados en la preparación de reactivos, patrones y para dilución de muestras deben ser lavados siguiendo un procedimiento establecido; por ejemplo, con una solución de HNO₃ grado técnico al 10% durante 24-36 horas y posterior enjuague tres veces con agua destilada y una con agua destilada desionizada. Se aconseja que este material sólo se utilice en los análisis de arsénico.
- Antes de correr cada curva de calibrado se debe leer un blanco de reactivos.
- Se deben preparar siempre los patrones tratando de obtener una matriz semejante a la de la muestra, técnica conocida como “matrix matching” (homologación de matriz).

- Los patrones deben leerse siempre de menor a mayor.
- Se debe trabajar siempre dentro del intervalo de trabajo validado, y nunca extrapolar.
- Para el control de interferencias se utiliza el método del agregado patrón.

6.6.4. Interferencias

Las intensidades relativas de las líneas espectrales de los elementos dependen fuertemente del tipo de fuente de excitación y de las condiciones de operación. Un plasma inductivo de argón (Ar ICP), operado a presión atmosférica, genera un espectro característico con matices diferentes a los de otras fuentes.

Cuando deben tomarse en cuenta las interferencias espectrales, la selección de “la mejor línea” depende del tipo de muestra. La considerable variedad de muestras no permite la selección de un simple grupo de líneas para cubrir todos los análisis para todos los elementos, a pesar de la reproducibilidad espectral y el bajo número de interferencias interelemento que se dan en el ICP de Ar.

El criterio de selección de las líneas espectrales para propósitos analíticos debe seguir en general el siguiente orden:

- Prominencia de la línea
- Línea libre de interferencias espectrales
- Suficiente rango de linealidad
- Practicidad en el uso para una situación específica

En la Tabla 1 se proporciona un listado de las líneas prominentes de argón (donde la prominencia es el número de orden en lo referente a conveniencia de uso en la mayoría de las situaciones prácticas) [2], su intensidad relativa, límite de detección en agua destilada desionizada (ADD) y posibles interferencias espectrales

Tabla 1. Líneas analíticas de arsénico y sus características espectrales y de desempeño.

Línea (nm)	Tipo*	Prominencia	Intensidad relativa (u.a.)	LD $\mu\text{g As mL}^{-1}$	Interferencias ^a
188,979	I	1	17	0,003	Cr , Pd
193,696	I	2	65	0,003	Ge, Cr , V, Pt
197,197	I	3	58	0,005	Pb, V , Co, Ra, Ti, Pd
228,812	I	4	360	0,005	V , Cd , Sc, V, Sb, Pt, Rh, Au

* I: línea de átomo; ^a **negrita**: interferencia mayor; normal: interferencia despreciable, excepto en el caso que el interferente sea parte importante de la matriz.

De acuerdo a lo presentado más arriba se selecciona la línea de As I (188,979 nm), por ser la que se encuentra más libre de interferencias y por tener una intensidad relativa adecuada para la determinación.

6.6.5. Instrumental/materiales

- Espectrómetro de emisión atómica con plasma inductivo de argón (ICP), con configuración axial, detector de estado sólido de tipo SCCD (*Segmented Charge Coupled Device*), con detección multielemental simultánea y provisto de automuestreador para un

mínimo de 100 muestras. Marca Perkin Elmer o equivalente.

- Pipetas aforadas clase A
- Matraces aforados clase A
- Vasos de precipitados
- Pipetas tipo Pasteur
- Perita de goma
- Pipetas automáticas de 10 a 100 μL , de 100 a 1000 μL y de 500 a 5000 μL
- Tubos de polipropileno con tapa de 15 y de 50 mL
- *Tips* de polipropileno para las distintas pipetas automáticas
- Nitrógeno ultrapuro (pureza > 99,999%)
- Argón ultrapuro (pureza > 99,99%)
- Argón tipo soldadura

6.6.6. Reactivos y soluciones

6.6.6.1. Estándar certificado de arsénico 1000 $\mu\text{g As mL}^{-1}$, marca certiPUR o equivalente, con trazabilidad a NIST (*National Institute of Standards and Technology*) u organismo similar.

6.6.6.2. HNO_3 concentrado (65%, v/v), calidad Suprapur o HNO_3 concentrado (65%, v/v), calidad PA, destilado sobre cuarzo.

6.6.6.3. Agua calidad NanoPURE o equivalente (conductividad 18 $\text{m}\Omega\cdot\text{cm}$).

6.6.6.4. Solución de HNO_3 0,2% (v/v). Se prepara diluyendo 2 mL de HNO_3 concentrado (65%, v/v) en un litro de agua calidad NanoPURE (6.6.6.3). Vigencia de esta solución: 1 mes, almacenada a temperatura ambiente al abrigo de la luz.

6.6.6.5. Triton X-100 P.A.

6.6.6.6. Solución de Triton X-100 0,2%: diluir adecuadamente 0,2 mL de Triton® (6.6.6.5) en 100 mL de agua calidad NanoPURE (6.6.6.3).

6.6.6.7. Solución de Triton X-100 0,02% en HNO_3 0,2% (v/v): diluir adecuadamente 100 mL de solución de Triton X-100 0,2% (6.6.6.6) en 1000 mL solución de HNO_3 0,2% (v/v) (6.6.6.4).

6.6.6.8. Solución madre 100 $\mu\text{g As mL}^{-1}$. Se prepara diluyendo 10,0 mL del estándar certificado de arsénico $\mu\text{g As mL}^{-1}$ (6.6.6.1) con agua calidad NanoPURE (6.6.6.3) hasta alcanzar un volumen de 100 mL. Vigencia de esta solución: 6 meses, conservada a 4 °C.

6.6.6.9. Solución estándar 10 $\mu\text{g As mL}^{-1}$. Se prepara diluyendo 10,0 mL de solución madre 100 $\mu\text{g As mL}^{-1}$ con agua calidad NanoPURE (6.6.6.3) hasta alcanzar un volumen de 100 mL. Vigencia de esta solución: 1 mes, conservada a 4 °C.

6.6.6.10. Solución estándar 1 $\mu\text{g As mL}^{-1}$. Se prepara diluyendo 10,0 mL de solución estándar 10,0 $\mu\text{g As mL}^{-1}$ con agua calidad NanoPURE (6.6.6.3) hasta alcanzar un volumen de 100 mL. Vigencia de esta solución: una semana, conservada a 4 °C.

6.6.6.11. Soluciones de calibrado de 0,010; 0,025; 0,050; 0,100; 0,250; 0,500 y 1,00 $\mu\text{g As mL}^{-1}$, preparadas de acuerdo a lo indicado en la Tabla 2 (ver más adelante), y utilizando agua calidad NanoPURE (6.6.6.3) para llevar a volumen.

6.6.6.12. Controles internos: soluciones de 0,025, 0,100 y 0,250 $\mu\text{g As mL}^{-1}$, preparadas independientemente de las soluciones de calibración y con un estándar certificado de arsénico 1000 $\mu\text{g As mL}^{-1}$ perteneciente a otro lote o de marca diferente a la utilizada para calibrar, preparadas de acuerdo a la Tabla 2 (ver más adelante).

6.6.6.13. Material de referencia certificado de matriz NIST SRM 1643e “Trace elements in water” o equivalente.

6.6.6.14. Estándar certificado de manganeso 1000 µg Mn mL⁻¹, marca certiPUR o equivalente, con trazabilidad a NIST u organismo similar.

6.6.6.15. Solución de Mn de 0,500 µg mL⁻¹, preparada a partir de diluciones sucesivas de 6.6.6.14. Vigencia de esta solución: 2 semanas, conservada a 4 °C.

6.6.6.16. Solución de As para ubicación de longitudes de onda: preparar una solución de 0,100 µg As mL⁻¹ según lineamientos dados en la Tabla 1.

Notas: 1) Todos los reactivos y soluciones se deben almacenar en recipientes adecuados, provistos de identificación que indique el nombre del reactivo o de la solución, concentración, expresada en unidades del sistema internacional (SI), fecha de preparación, vigencia e iniciales del analista.

2) La *performance* del equipo (ICP) se verifica diariamente con una solución de 0,500 µg Mn mL⁻¹.

3) La alineación de las longitudes de onda se corrige diariamente mediante el empleo de una lámpara de Hg interna del equipo.

4) La verificación de las longitudes de onda, de los caudales de los gases y de otros parámetros relevantes del equipo (ICP) son llevadas a cabo por el servicio técnico de mantenimiento de acuerdo a lo establecido en el programa anual de calibración y verificación correspondiente.

6.6.7. Calibración del método

La calibración del método se lleva a cabo por diluciones independientes de las soluciones madres de As (6.6.6.10 y 6.6.6.11). Las concentraciones y cantidades de reactivos se indican en la Tabla 2:

Tabla 2. Concentraciones y cantidades de reactivos para la calibración del método de ICP-OES.

Soluciones de calibrado	Concentración (µg mL ⁻¹)	Volumen HNO ₃ (c) (mL)	Volumen solución madre (mL)	Concentración solución madre (µg mL ⁻¹)	Volumen final (mL)
Blanco reactivos	0,000	0,020	0	0	10,0
1	0,010	0,020	0,100	1	10,0
2	0,025	0,020	0,250	1	10,0
3	0,050	0,020	0,500	1	10,0
4	0,100	0,020	0,100	10	10,0
5	0,250	0,020	0,250	10	10,0
6	0,500	0,020	0,500	10	10,0
7	1,00	0,020	1,00	10	10,0

Para el trazado de la función respuesta (curva de calibración), se elige un modelo lineal, cuyo coeficiente de correlación (r²) debe ser mayor o igual a 0,995. En caso contrario, se repite la calibración.

6.6.8. Muestreo y preservación de las muestras

Para la recolección de las muestras de agua se utilizan recipientes de polipropileno o polietileno.

Las muestras deben ser filtradas a través de membrana Millipore® 0,45 µm. Posteriormente, las muestras deben ser acidificadas (pH < 2) con solución de HNO₃ 0,2%

v/v (6.6.6.4) y deben permanecer refrigeradas hasta el momento del análisis a 4 °C.

Con la antelación debida se condicionan las muestras para que alcancen temperatura ambiente.

6.6.9. Procedimiento de análisis

6.6.9.1. Retirar las muestras a ser analizadas de la heladera y llevarlas a temperatura ambiente.

6.6.9.2. Encender el equipo de ICP de acuerdo al instructivo del SGC (Sistema de Gestión de Calidad).

6.6.9.3. Encender la computadora y esperar el tiempo indicado para el encendido del equipo.

6.6.9.4. Seleccionar el “Método” (*Method*): “Determinación de Arsénico en aguas”. Las Condiciones de Operación se pueden ver en el apartado 6.6.25.

6.6.9.5. Confeccionar el Archivo sobre Información de las Muestras (*Sample Infofile*), para el caso de los espectrómetros Perkin Elmer, de acuerdo con las muestras a analizar, consignando la posición en el automuestreador y su identificación, e imprimirlo.

6.6.9.6. Crear un archivo para guardar los resultados (*Dataset*).

6.6.9.7. Colocar en el recipiente ubicado en la posición de lavado del equipo la solución de enjuague Solución de Triton X-100 0,02% en HNO₃ 0,2% (v/v) (6.6.6.7).

6.6.9.8. Ubicar la solución de HNO₃ 0,2% (v/v) (6.6.6.4) en la posición del blanco.

6.6.9.9. Ubicar en las posiciones asignadas por el “Método” (*Method*) las soluciones de calibrado, preparadas según lo indicado en la Tabla 2.

6.6.9.10. Ubicar las muestras en el automuestreador siguiendo el ordenamiento consignado en el Archivo sobre Información de las Muestras (*Sample Infofile*).

6.6.9.11. Ubicar el/los controles internos (6.6.6.13) en las posiciones asignadas en el Archivo sobre Información de las Muestras *Sample Infofile*, recordando anteponer un blanco de reactivos y corriendo otro blanco después de cada control (los controles internos se corren respetando el orden de concentración del grupo de muestras a analizar).

6.6.9.12. Cada tres meses, o cuando la situación lo amerite, colocar una alícuota de material de referencia de matriz MRC NIST 1643 e (6.6.6.13), en una posición fija del automuestreador (por ejemplo la posición 99), para evaluar el sesgo de las determinaciones.

6.6.9.13. Al iniciar cada lote de muestras colocar un blanco de reactivos.

6.6.9.14. Cada 10-20 muestras se debe incluir un control interno y un duplicado de una muestra al azar como control de repetibilidad.

6.6.9.15. Con la impresión del Archivo sobre Información de las Muestras (*Sample Infofile*) revisar la correcta ubicación de muestras, controles internos (6.6.6.13), duplicados de muestras y materiales de referencia de matriz, si correspondiese (6.6.6.13).

6.6.9.16. Indicar que los datos crudos deben ser salvados mediante el marcado de la instrucción Guardar Datos (*Save data*) y en el caso de que se desee su impresión marcar la instrucción Imprimir archivo (*print log*).

6.6.9.17. Encender la antorcha y esperar 10-15 minutos que se establezca el plasma. Alinear las longitudes de onda con la lámpara de Hg Realineación con Hg (*Hg realign*).

6.6.9.18. Verificar la *performance* del equipo con la solución de Mn Alineación de la antorcha (*Align view*).

6.6.9.19. Ajustar los máximos de las líneas espectrales y fijar las posiciones para la lectura del fondo usando la solución de As para ubicación de longitudes de onda (6.5.5.16),

recordando volver a guardar el “Método” (*Method*).

6.6.9.20. Iniciar la calibración dando al equipo la orden de hacerlo tecleando en la palabra Calibrar (*calibrate*).

6.6.9.21. Una vez finalizada la calibración, inspeccionar visualmente la curva obtenida y su coeficiente de correlación. Si cumple con el criterio fijado en 6.6.10.3 ($R^2 > 0,995$), iniciar la lectura de las muestras y controles mediante el teclado de la orden Analizar muestras (*Analyze Samples*).

6.6.9.22. Observar atentamente que la punta de la lanza del automuestreador se sumerja en los tubos que contienen estándares, muestras y controles.

6.6.9.23. A medida que avance el análisis de las muestras, si corresponde, anotar aquéllas que debiesen ser diluidas, y proceder a su dilución.

6.6.9.24. Si correspondiese, al finalizar el análisis hacer un nuevo Archivo sobre Información de las Muestras (*Sample Infofile*) incluyendo las muestras que debieron ser diluidas y correrlas.

6.6.9.25. Imprimir el informe, seleccionando en el menú la opción Informes (*Reports*).

6.6.9.26. El informe digital se archiva en la carpeta As en el disco C de la computadora. El informe en papel se archiva en una carpeta correspondiente a As para el año en curso. Carpeta ICP-Informes “As” 20XX.

6.6.9.27. Se deja el equipo lavando con solución de Triton X-100 0,02% en HNO_3 0,2% (v/v) (6.6.6.7).

6.6.9.28. Se apaga la antorcha.

6.6.9.29. Se cierra el programa que maneja el ICP. El equipo se apaga en la secuencia inversa a la que se encendió.

6.6.10. Análisis de datos

6.6.10.1. Cálculos

- Preparar una curva de calibración en agua por el método de adiciones estándar en el rango comprendido entre 0, 010 – 1,00 $\mu\text{g As mL}^{-1}$.

- Realizar un ajuste “lineal” para la curva de calibración.

- El programa realiza automáticamente los cálculos correspondientes, determinando la concentración de arsénico presente en las muestras, el Desvío Estándar Relativo (RSD%) y la concentración C.

- Se deben calcular los porcentajes de recuperación para los controles internos (%R) y la repetibilidad del ensayo.

$$\%R = [(\text{concentración real del estándar}) \times 100] / (\text{concentración obtenida para el estándar}) \quad (6.4)$$

$$\text{Repetibilidad} = [(\text{concentración muestra} - \text{concentración muestra duplicada}) \times 100] / \text{promedio de las concentraciones duplicadas} \quad (6.5)$$

6.6.10.2. Expresión de los resultados

- Los resultados deben ser expresados con tres cifras significativas.

- Para los valores cuya concentración sea menor a 0,003 $\mu\text{g As mL}^{-1}$ se informa “< 0,010 $\mu\text{g As mL}^{-1}$ ” “no detectado”. “Límite de detección 0,003 $\mu\text{g As mL}^{-1}$ ”. “Límite de cuantificación 0,010 $\mu\text{g As mL}^{-1}$ ”.

- Para las concentraciones entre $0,003 \mu\text{g As mL}^{-1}$ y $0,010 \mu\text{g As mL}^{-1}$ se informa “< $0,010 \mu\text{g As mL}^{-1}$ ” “Detectado”. “Límite de detección $0,003 \mu\text{g As mL}^{-1}$ ”. “Límite de cuantificación $0,010 \mu\text{g As mL}^{-1}$ ”.
- Para las concentraciones iguales o mayores que $0,010 \mu\text{g As mL}^{-1}$ se informa $<x,xxx \pm u,uuu \mu\text{g As mL}^{-1}$ ”, donde x,xxx es la concentración de As y u,uuu es la incertidumbre de la medición.

6.6.10.3. Controles

El analista considera aprobada la corrida de análisis cuando:

- La curva de calibración presenta un $R^2 > 0,995$.
- La concentración del blanco de reactivos es menor a $0,003 \mu\text{g As mL}^{-1}$.
- El resultado obtenido en el control interno (muestra fortificada) se encuentra en un porcentaje de recuperación entre 90-110%.
- El RSD% de los replicados de las lecturas de las muestras es menor a 5%.
- Los controles de repetibilidad son menores a 10%.
- La concentración del blanco debe ser menor que el Límite de Detección (LDM).

De no alcanzarse estos parámetros, se consulta con el Jefe del Laboratorio quien determina los pasos a seguir.

6.6.11. Registros

- Informe Winlab32, para el caso de Espectrómetros de Plasma marca Perkin Elmer.
- Cuaderno de Laboratorio
- Cuaderno de “Preparación de Estándares”.
- Carpeta ICP Informes - “As” 20XX.
- Registro de Trabajos “No Conforme”

SECCIÓN B. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE LOS RESULTADOS [5]

6.6.12. Exactitud del método

La exactitud del método se asegura por medio de materiales de referencia certificados de matriz, con una periodicidad al menos trimestral, cuando amerite la corrida de uno de estos estándares o cuando se revalide el método. Se analiza la muestra de acuerdo a lo establecido en el presente procedimiento y su concentración se compara con la establecida en el certificado. El porcentaje de recuperación debe encontrarse dentro de los criterios de aceptación definidos en 6.6.10.3.

6.6.13. Estudio de la repetibilidad

Para el análisis en serie de muestras se analiza una muestra cada 10 por duplicado. Se calcula la repetibilidad de la misma. Ésta debe encontrarse dentro de los límites de aceptación y rechazo establecidos en 6.6.10.3.

Este parámetro es un elemento de entrada para la determinación de la competencia técnica de los analistas.

6.6.14. Adición de estándar o muestras fortificadas

Una de cada 10-20 muestras analizadas debe ser un estándar de concentración conocida de arsénico. El porcentaje de recuperación debe encontrarse dentro de los límites de aceptación y rechazo establecidos en el punto 6.6.10.3.

6.6.15. Control de blancos

En cada lote de análisis se analiza un blanco de reactivos. La concentración de este blanco debe ser menor al límite de detección del método.

6.6.16. Límite de detección

El límite de detección del método (LDM) es $0,010 \mu\text{g As L}^{-1}$ y se calcula como $LD = X_B + 3s$, de acuerdo a lo descrito en [5], siendo X_B la señal del blanco y $3s$ la desviación estándar de la señal del blanco.

6.6.17. Control de la exactitud

Para comprobar la exactitud del análisis se puede usar una muestra de control preparada en el laboratorio a partir de muestras ya analizadas, materiales de referencia trazables a NIST, u otro material de referencia. Se compara el resultado con su valor de referencia y límites de aceptación. Los resultados obtenidos deben estar dentro de los límites de control establecidos. Cuando el resultado no se encuentre dentro del rango de los límites aceptables, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis. Los límites de control se verifican anualmente o si se realizan modificaciones en el método. La muestra de control se analiza por lo menos al comienzo y al final de cada lote o serie de muestras.

6.6.18. Control de la precisión

En el caso del análisis de una serie de muestras o de un lote de muestras, se debe realizar un duplicado después de por lo menos cada 20 muestras, siendo óptimo realizarlo cada 10 muestras. El porcentaje de la desviación promedio relativa (DPR) no debe ser mayor del 10%. Sólo para los duplicados cuyas concentraciones se encuentren en el orden de 1 y 5 veces el límite de detección del método (LDM), el porcentaje DPR puede ser menor o igual a 20%.

$$DPR = \frac{C_1 - C_{1-d}}{(C_1 + C_{1-d})/2} \times 100 \quad (6.6)$$

donde:

DPR: desviación promedio relativa

C_1 : concentración de la muestra

C_{1-d} : concentración de la muestra duplicada

De no cumplirse esta regla, se debe repetir el análisis de la muestra y su duplicado*. En caso contrario, debe repetirse el lote de muestras analizadas.

* El equipo Perkin Elmer tiene un apartado de QC/QA ("quality control/quality assurance") en "Método" (*Method*) que se ejecuta automáticamente; si el duplicado da distinto de lo previsto, el programa repite la muestra y el duplicado. Si los resultados no son correctos, el equipo se detiene, en espera de una decisión externa. En ese caso, el analista avisa al Jefe y se toma una decisión considerando la magnitud del desvío: si se repite o no todo el lote de muestras. Generalmente, se repite el lote de muestras y el control de duplicado.

6.6.19. Adición de estándar

En cada lote de muestras se analiza una muestra por duplicado; al duplicado se le agrega solución estándar de As de forma que la solución resultante contenga 0,050 $\mu\text{g As L}^{-1}$ por arriba del valor propio, debido al agregado realizado. El porcentaje de recuperación del estándar debe estar entre el 90 y 110%. De no cumplirse esta regla, se debe repetir el análisis de la muestra y su duplicado con la adición. En caso de que no se logre la recuperación, se repite el lote de muestras analizadas.

6.6.20. Control de blancos

En cada lote de muestras se analiza un blanco de trabajo; los blancos analíticos deben ser preparados con agua ultrapura en cada lote de muestra y tratados de la misma forma que las muestras, para identificar posibles fuentes de contaminación (blanco de reactivos del método). El resultado obtenido debe ser menor que el límite de detección del método (LDM). Si es necesario realizar acciones correctivas, éstas deben estar documentadas.

6.6.21. Estándares de verificación

La curva de calibración se verifica con 2 estándares de 0,025 y 0,100 $\mu\text{g As mL}^{-1}$ con cada lote de muestras. Los estándares de verificación se preparan a partir de una solución madre diferente a la utilizada para la preparación de la curva de calibración. El valor obtenido no debe diferir de $\pm 15\%$ del valor del estándar. En caso contrario, se debe preparar una nueva curva de calibración. Si es necesario realizar acciones correctivas, éstas deben estar documentadas.

6.6.22. Cartas de control

Se debe mantener al día las cartas de control para los blancos, las muestras duplicadas y los estándares de verificación. Se deben calcular los límites de control y advertencia, y construir la carta de control como se indica en [6]. Inmediatamente después de analizar las muestras control, graficar el valor en la carta de control.

Se deben tomar acciones correctivas en los siguientes casos:

- Si el valor determinado está fuera de los límites de control, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis.
- Si 2 de 3 valores determinados sucesivamente están fuera de los límites de advertencia, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis.
- Si 7 de 8 valores determinados sucesivamente se encuentran al mismo lado de la línea promedio, se debe revisar el procedimiento.

6.6.23. Incertidumbre

6.6.23.1. General [7]

Se expresa la incertidumbre expandida del resultado analítico mediante la siguiente ecuación:

$$u = \sqrt{\text{precisión}^2 + \text{sesgo}^2} \quad (6.7)$$

$$U = k \times u \quad (6.8)$$

donde:

u = incertidumbre estándar combinada del resultado analítico.

k = factor de cobertura para un nivel de confianza de 95%. Generalmente se adopta el valor 2.

U = incertidumbre expandida.

6.6.23.2. Cálculo de la concentración

$$C = C_{\text{sol}} \times f_d \quad (6.9)$$

donde:

C = concentración informada

C_{sol} = concentración del analito en solución

f_d = factor de dilución

6.6.23.3. Informe de la concentración

La concentración del analito en la muestra se informa como: $C \pm U$

6.6.24. Abreviaturas y definiciones

6.6.24.1. Abreviaturas

ICP- OES: espectroscopía de emisión – plasma inductivo de argón

RSD%: desviación estándar relativa porcentual.

C: concentración de analito

U: incertidumbre expandida

u: incertidumbre estándar combinada

k: coeficiente de cobertura

f_d : factor de dilución

ADD: agua destilada desionizada

6.6.24.2. Definiciones [8]

- **Mesurando:** magnitud particular sometida a medición
- **Exactitud:** proximidad entre el resultado de una medición y el valor verdadero del **mesurando**.
- **Sesgo:** diferencia entre el valor esperado como resultado y el valor aceptado como referencia.
- **Precisión:** dispersión entre resultados independientes de un ensayo obtenidos bajo condiciones estipuladas.
- **Precisión intermedia:** magnitud que relaciona la variación entre los resultados observados, cuando uno o más factores, tales como tiempo, equipamiento, operador, varían dentro de un mismo laboratorio
- **Repetibilidad:** magnitud que relaciona la variación entre los resultados observados en condiciones de repetibilidad, lo que implica mismo operador, mismo equipo, misma muestra, mismo laboratorio, intervalos cortos de tiempo.

6.6.25. Condiciones de operación del equipo Perkin Elmer Optima 3100 XL

Tabla 4. Parámetros de operación

Parámetros ICP-OES	Valores aplicados
Potencia de r.f aplicada	1400 W
Frecuencia de r.f. del generador	40 MHz
Caudal de Ar del plasma	15 L min ⁻¹
Caudal de Ar auxiliar	0,5 L min ⁻¹
Caudal de Ar de nebulización	0,8 L min ⁻¹
Caudal de solución	1, 5 mL min ⁻¹
Longitudes de onda	As I 188,979 nm As I 193,696 nm
Replicados	3
Retardo en la lectura (“Read delay”)	40 s
Tiempo de lectura	Mínimo 2 s Máximo 20 s
Tiempo de enjuague (“Flush time”)	10 s
Tiempo de lavado	30 s

REFERENCIAS

1. Boss, C. B., Fredeen, K. J. (1999) Concepts, Instrumentation, and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. Second Edition. Perkin Elmer.
2. Montaser, A., Golightly D. W. Eds., (1992) Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectroscopy. VCH Publishers. New York.
3. Boumans, P.W. J. M. Ed. (1987) Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy- Parts 1 and 2. John Wiley and Sons. New York.
4. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Método 3113- American Public Health Association (APHA) 21th Edition (2005). 3-24 – 3-31.
5. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. (1998) A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. EURACHEM Guide. Editor: H. Holcombe, LGC, Teddington. UK.
6. James N. Miller, Jane C. Miller (2004). Estadística y Quimiometría para Química Analítica. 4ª Edición. Editorial PEARSON – PRENTICE HALL.
7. Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories - Edition 2- (2003) Nordtest Report TR 537.
8. Norma ISO 3534 (1993) Statistic. Vocabulary and Symbols. Part 1. Probability and General Statistical Terms.

Capítulo 7

Espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado

HAYDN BARROS, MARÍA LUISA CASTRO DE ESPARZA, MARÍA WONG, VILMA MORI

7.1. INTRODUCCIÓN

La espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (del inglés *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) es conocida como ICP-MS. Esta técnica de análisis elemental e isotópico se ha venido imponiendo para las más diversas aplicaciones en las últimas dos décadas [1]. Esto se debe principalmente a su capacidad de discriminar isótopos y a sus bajos límites de detección, que pueden llegar a ser inferiores a los 10-6 mg L⁻¹. Dichos límites son mucho más bajos que los de otras técnicas analíticas más convencionales (Figura 7.1) como fluorescencia de rayos x, espectrometría de emisión o absorción atómica, etc.

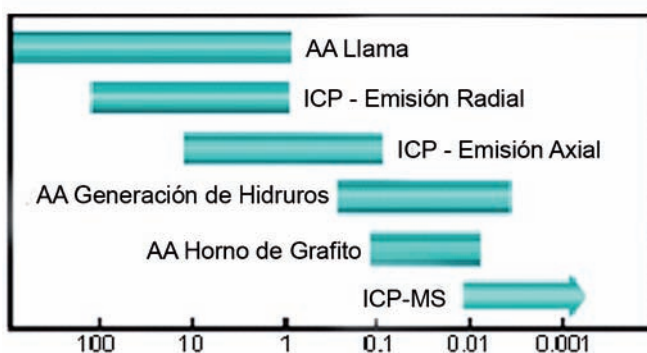


Figura 7.1. Rangos aproximados de los límites de detección en µg L⁻¹.

Hoy en día, el ICP-MS se ha consolidado como una técnica estándar en diversos laboratorios de prestigio para análisis de control rutinarios de, por ejemplo, aguas, suelos, alimentos, muestras clínicas, y otras. Este tipo de instrumento resulta ideal para medir concentraciones de metales pesados como As, Se, Cd, Pb y Hg.

Para describir con mayor facilidad un ICP-MS, se puede dividir el sistema en cinco partes: Introducción de muestras, Generación de iones (Plasma), Interfase de acondicionamiento, Discriminador de iones (p. ej., un cuadrupolo) y Detector (Figura 7.2).

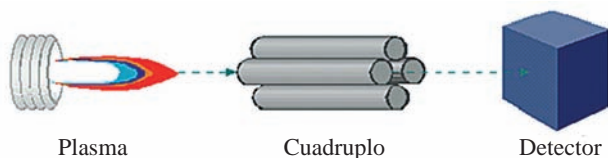


Figura 7.2. Esquema de Espectrómetro de Masas con Plasma Inductivamente Acoplado, ICP-MS.

7.2. SISTEMA DE INTRODUCCIÓN DE MUESTRAS

El ICP-MS se puede acoplar a distintos sistemas de introducción de muestras sólidas, líquidas o gaseosas. En este trabajo, nos restringiremos a describir los elementos esenciales de los sistemas convencionales de introducción de muestras acuosas. Cada marca y modelo de ICP-MS tiene sus particularidades; sin embargo, el principio de funcionamiento es generalmente similar al aquí expuesto.

Las muestras acuosas, generalmente ligeramente aciduladas, son introducidas mediante una bomba peristáltica. Después de absorbida la muestra, es inyectada por medio de un nebulizador en la cámara de nebulización. El nebulizador, alimentado con la muestra en forma de solución, produce pequeñas gotas que son impelidas por gas argón a una presión adecuada. El nebulizador está fabricado típicamente en cuarzo, para evitar el ataque de los ácidos de la disolución, que son necesarios para evitar la adsorción de elementos traza en las mangueras y conductos que transportan la muestra. También hay nebulizadores fabricados en plástico resistente o vidrio. La cámara de nebulización, de cuarzo, está rodeada de una celda que funciona por efecto Peltier (el efecto inverso al del termopar o efecto Seebeck) [6], y que la mantiene a 3 °C para favorecer las condiciones de formación de pequeñas gotas de niebla. Como se muestra en la Figura 7.3, el *spray* que sale del nebulizador entra en la cámara, chocando de frente con una bola de impacto; así, sólo las gotas menores a 10 µm (2% de la muestra) logran proseguir y son bombeadas por la diferencia de presión hacia el interior del sistema (las gotas más grandes se condensan en las paredes de la cámara y son evacuadas).

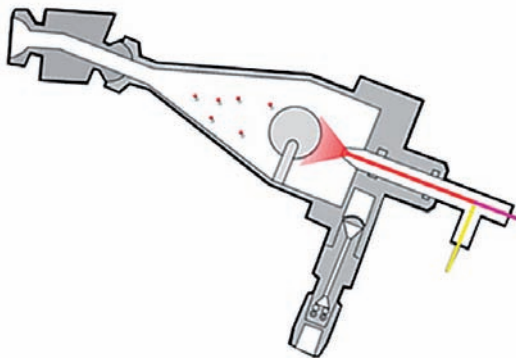


Figura 7.3. Nebulizador y cámara de nebulización para introducción al plasma.

El esquema mostrado en la Figura 7.3. corresponde a un tipo de nebulizador y pueden encontrarse otros tipos no descritos en este texto.

7.3. GENERACIÓN DE IONES: PLASMA INDUCTIVAMENTE ACOPLADO

El plasma inductivamente acoplado tiene como finalidad deshidratar la muestra, atomizarla (romper su estructura molecular), excitar los átomos presentes y por último ionizarlos; esto se logra gracias a las temperaturas de 6000 a 8000 K que alcanzan este tipo de plasmas.

Cuando se utiliza un gas como el argón para obtener un plasma, se necesita una fuente de energía externa en forma de campo electromagnético para ionizar los átomos del gas y así crear y mantener el plasma. Cuando el plasma está encendido, se observa una luminosidad azulada proveniente de los átomos de Ar en su continua excitación-desexcitación.

Los plasmas inductivamente acoplados se obtienen cuando se aplica una corriente de radiofrecuencia (RF) a través de una bobina. De esta forma, el campo electromagnético oscilante dentro de ésta es el encargado de suministrar energía a los iones [1]. Dentro de la bobina, se encuentra un dispositivo de cuarzo llamado antorcha donde se forma el plasma. La antorcha está formada por tres tubos concéntricos, Figuras 7.4 y 7.5. Por el capilar más fino, se introduce la muestra en forma de niebla junto con el argón que se usó para su nebulización. Por el segundo capilar, viaja la mayor parte del Ar que es utilizado para el plasma (flujo auxiliar), y por el tercer y más grande de los tubos, se inyecta el flujo enfriador. Mientras que el gas auxiliar es del orden de 0,5 a 1,0 L min⁻¹, el gas del plasma, es decir, el que circula en vórtice para enfriamiento, es del orden de 12 a 15 L min⁻¹.

Ambos flujos de argón mantienen el plasma lejos de las paredes de la antorcha, protegiendo así la estructura de cuarzo.

Es importante notar que la antorcha está conectada al sistema de introducción de muestras por un extremo y por el otro es un sistema abierto. Por este motivo, se debe suministrar un flujo constante tanto de Ar como de muestra.

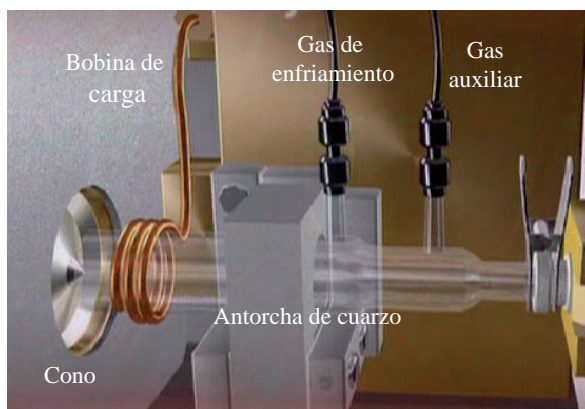


Figura 7.4. Antorcha, líneas de gases y bobina de radiofrecuencia.

Los parámetros que afectan a un sistema de medida que utilice un plasma inductivamente acoplado son muy variados, pero, en general, se pueden separar en dos tipos principales. Por una parte, están los parámetros físicos del plasma: temperatura, homogeneidad, proximidad al equilibrio, etc. y, por otra, las variables que tienen que ver con la naturaleza y características del aerosol que se introduce en el plasma. Es sabido que la introducción de la muestra, la generación del aerosol y su transporte juegan un papel fundamental en la utilización de las técnicas de plasma inductivamente acoplado [2], ya que la magnitud de la señal analítica está directamente correlacionada con la cantidad de masa que se logra introducir dentro del plasma.

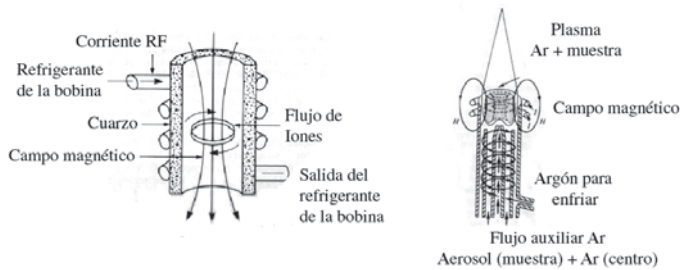


Figura 7.5. Bobina, interior de la antorcha y campo de RF.

En las técnicas de espectrometría por emisión atómica, se aprovecha la excitación-desexcitación y, en el caso de un espectrómetro de masas, se aprovecha el plasma como una fuente de producción de iones. La carga o estado de ionización mayoritario es uno, siendo poco significativa la fracción de especies doblemente ionizadas.

7.4. INTERFASE DE ACONDICIONAMIENTO DEL HAZ DE IONES

En el caso de un ICP-MS, la introducción de los iones (generados en el plasma) dentro del sistema de detección propiamente dicho tiene una dificultad fundamental: el plasma inductivamente acoplado opera a presión atmosférica, mientras que el discriminador de masas y el detector están en un espacio a alto vacío. Por ello, se requiere de una interfase especial que permite el acoplamiento entre esas dos partes del sistema.

La idea general consiste en que el flujo de iones pase a través de una serie de cámaras con presiones cada vez menores. Esto se logra interponiendo entre el plasma y la primera cámara, llamada cámara de expansión, un cono con un agujero muy pequeño. De esta forma, se disminuye la entrada de argón desde el exterior y se posibilita el establecimiento de cierto nivel de vacío a través del bombeo continuo con una bomba rotatoria. Este cono de muestreo (o cono *sampler*) es generalmente de níquel (se puede utilizar también Cu y Pt), y su pequeño orificio es de 1 mm de diámetro. El mismo tiene un buen contacto térmico con un disipador y está conectado a tierra, ya que está en contacto directo con el plasma. En condiciones de trabajo, la cámara de expansión tiene una presión aproximada de 1 milibar, de tal manera que parte del plasma con la muestra es continuamente absorbida dentro de ella por efecto de la gran diferencia de presión. Este proceso ocurre a velocidades supersónicas y, durante el mismo, el gas se expande adiabáticamente, lo cual reduce tanto la densidad como la temperatura del gas.

Para asegurar el adecuado funcionamiento del sistema, el usuario debe manipular (vía *software*) los controles micrométricos de la posición de la antorcha con respecto a la entrada del cono, y así alinearlos. Estos conos deben desmontarse y limpiarse periódicamente (con agua ligeramente acidulada y 5 a 10 min en ultrasonido, seguido de un enjuague con agua desionizada).

Una vez superado el cono de muestreo, el flujo del gas forma una estructura aproximadamente cónica que colisiona con el gas que ocupaba el espacio, causando que la velocidad del chorro baje a niveles subsónicos y que la temperatura se eleve. Es por ello que un segundo cono metálico de orificio más pequeño (~0,4 mm) se interpone antes de llegar a la siguiente zona, ya que sólo el material cercano al eje del chorro cónico es representativo de la muestra introducida. Este segundo obstáculo permite sólo el paso de la fracción más central de este chorro, eliminando el borde del mismo, por lo que

el nombre en inglés del cono es *skimmer*. Este cono es la interfase entre la cámara de expansión y la cámara que contiene las lentes, actuando como una cámara intermedia (ver Figura 7.6). El mecanismo de bombeo hacia el interior funciona también por diferencias de presión, ya que la cámara intermedia tiene una presión de 10^{-5} mbar.

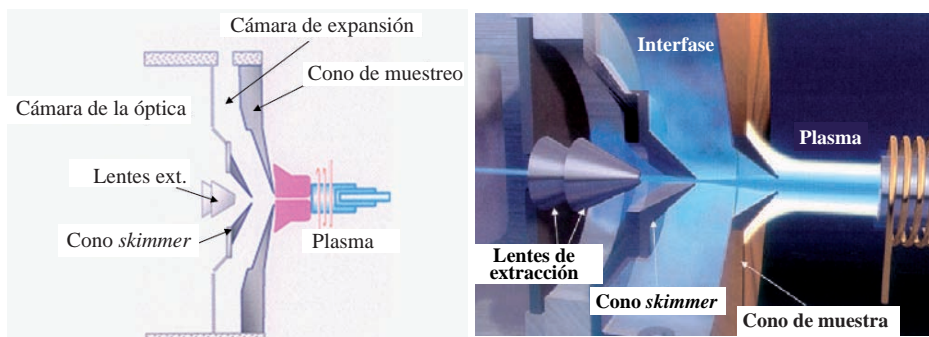


Figura 7.6. Interfase Plasma – Espectrómetro.

Una vez que la muestra junto con el argón ha entrado en la zona de baja presión, el paso siguiente es separar los iones de las especies neutras y de los electrones (producidos en la ionización). Para ello, se cuenta con una serie de lentes de iones o electrodos que se encargan de acelerar y colimar el flujo de iones.

Hay una serie de lentes encargadas de la aceleración (lentes de extracción) y de la prefocalización. Posteriormente, hay una lente que tiene como función sacar el haz del eje inicial para apartarlo de la trayectoria de las especies neutras y de la luz. Seguidamente, el haz (esta vez sólo de iones) entra en otra lente iónica (a veces cuadrupolar o hexapolar), para su reenfoque. Este espacio es utilizado para la célula de colisión (CCT), que se usa para la reducción de especies moleculares. Se hace pasar el haz por un gas de baja masa atómica (H o He) a baja presión; de esta manera, las colisiones entre los iones del haz y el gas de la CCT provocan la fragmentación de los iones poliatómicos, disminuyendo la interferencia que producen. Luego hay otro conjunto de lentes de enfoque que se encargan de optimizar la introducción del haz en el discriminador masas.

7.5. DISCRIMINACIÓN DE IONES

El espectrómetro utilizado es básicamente un cuadrupolo electromagnético (también puede ser un hexapolo o un octupolo), que consiste en 4 barras metálicas montadas de forma equidistante entre ellas alrededor de una circunferencia, y sometidas a una combinación de corrientes continuas (DC) y alternas (RF), éstas últimas en el rango de las radiofrecuencias, ver Figura 7.7. Se aplica una combinación de potenciales RF / DC a los pares de las barras del cuadrupolo, de forma que las barras diagonales tienen el mismo potencial, pero las barras adyacentes están desfasadas 180° en cuanto a la componente alterna. Con el voltaje DC se consigue enfocar los iones en el eje, y con la radiofrecuencia se consigue atraer y repeler a los iones de tal manera que su trayectoria dentro del cuadrupolo es alterada, generando así fluctuaciones en el plano perpendicular al eje principal de movimiento. Debido a esto, los iones se mueven circularmente a través del eje del cuadrupolo, es decir, la composición de movimientos da una hélice. Como los iones se separan o se acercan a las barras de acuerdo a su relación carga/masa (m/e), se puede demostrar que, una vez que se fijan los voltajes RF y DC, la mayoría de las

masas se hallan dentro de una trayectoria inestable y no atraviesan el eje del cuadrupolo. Sin embargo, bajo condiciones dadas, los iones de una específica relación m/e pasarán a través del analizador y alcanzarán el detector. Los iones que colisionan con las barras se neutralizan rápidamente, y buena parte de ellos son evacuados por las bombas de vacío.

Una de las principales ventajas de este sistema, es que los valores de los potenciales directo y alterno pueden ser modificados en tiempos muy cortos (milisegundos). De esta forma, se puede seleccionar una determinada relación e/m , recolectar los isótopos ionizados que logren atravesar hasta el detector y luego modificar los parámetros para seleccionar rápidamente y secuencialmente otra masa.

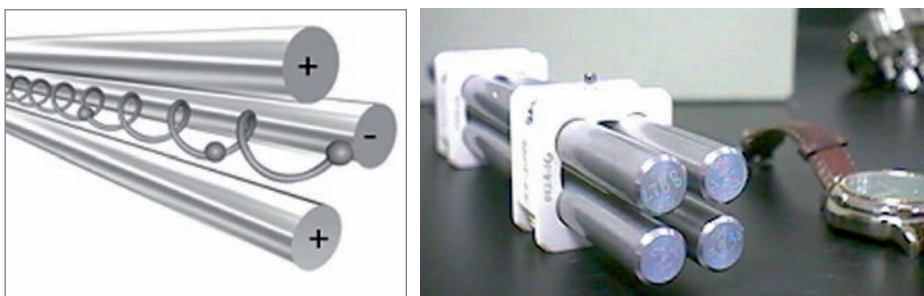


Figura 7.7. Izq.: trayectoria de una masa seleccionada a través del cuadrupolo. Der.: fotografía de un cuadrupolo convencional de un equipo comercial.

7.6. SISTEMA DE DETECCIÓN

El detector que se utiliza generalmente es un multiplicador de electrones (*channeltron e-multiplier*). Este tipo de detectores funciona por el mismo principio que un tubo fotomultiplicador, pero con iones. El detector está constituido por una serie de dínodos conectados a potenciales cada vez mayores conforme se va recorriendo su interior. Una vez que los iones pasan el cuadrupolo, son atraídos por el alto voltaje aplicado al interior del detector; cuando un ion colisiona con la superficie (interior) del primer sínodo, se emiten electrones secundarios que son atraídos por la siguiente diferencia de potencial, y así sucesivamente. Por cada etapa, se generan cada vez más electrones secundarios, ya que se produce un efecto en cascada. La amplificación que logra este tipo de detectores llega hasta 10^8 (cargas eléctricas elementales) por cada ion en la entrada [3].

El hecho de disponer de factores de amplificación elevados es conveniente ya que se traduce en altos niveles de sensibilidad. Sin embargo, existe el riesgo de que el detector sufra daños debido a tasas de recuento altas que produzcan avalanchas excesivamente numerosas y deterioren físicamente el material, sobre todo, de los dínodos de las últimas etapas. El riesgo es elevado en el caso de muestras desconocidas o cuando se miden isótopos de bajas y altas concentraciones en un mismo momento. Para evitarlo, el sistema detecta automáticamente y en continuo el nivel de señal amplificada en la etapa correspondiente al 23% de la amplificación. Esta señal se recoge por medio de un circuito integrador y se utiliza para accionar el cierre del resto de las etapas de amplificación del detector, ver diagrama en Figura 7.8. La misma señal se utiliza como señal para la medida, pero sólo en el caso de que la amplificación supere el umbral correspondiente. De esta forma, el detector cuenta con dos modos de detección, un contador de pulsos propiamente dicho y un integrador de señales que funciona sólo para altas tasas de recuento. Este circuito integrador produce señales menos estables, pero cuando se utiliza con señales suficientemente intensas los resultados son satisfactorios.

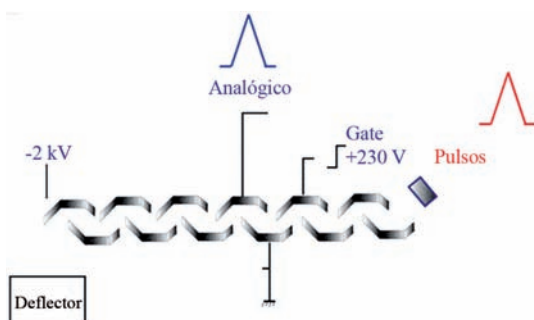


Figura 7.8. Sistema de detección de iones.

7.7. PARÁMETROS Y CONDICIONES DE MEDIDA

A lo largo del sistema de introducción de muestras y en la fase de acondicionamiento, existen una gran cantidad de variables que condicionan la cantidad de iones que finalmente llegan al detector [4]. En la mayoría de los equipos comerciales, estas variables se controlan mediante una computadora. Sin embargo, existen fluctuaciones y derivas importantes en una medida realizada por esta técnica. Principalmente, las fluctuaciones tienen su origen en el bombeo de la muestra mediante la bomba peristáltica, en el desplazamiento de la nube (o niebla) de la muestra dentro de la cámara de nebulización y las fluctuaciones que se producen en el plasma, las cuales afectan el grado de ionización de las distintas especies. Por otro lado, las derivas en la sensibilidad del sistema están vinculadas con la posible obturación parcial de los conos (de muestreo y *skimmer*) debido a la acumulación de material en ellos, y al deterioro de las conducciones plásticas por las que circula la muestra. Por estas razones, la calibración se realiza generalmente en función de las concentraciones y no de las cantidades absolutas de analito. Otra de las características de esta técnica es que se hace necesaria la incorporación de un patrón interno para monitorear las derivas de la sensibilidad a lo largo del tiempo y poder corregirlas. Esto se hace sobre la hipótesis de que las derivas relativas de sensibilidad son las mismas para el analito y para el patrón interno. Esa suposición no tiene carácter general y debe ser verificada en cada caso.

Por lo general, para determinar metales de masas intermedias en agua, se utilizan como trazadores internos Sc, Y, Rh, In o Tb, por ejemplo, en diversos métodos de la US EPA [5]. Antes de llevar a cabo la medida, se selecciona un conjunto de muestras para realizar una exploración cualitativa del contenido de las mismas y para llevar a cabo una semicuantificación. Esta última se utiliza para determinar el rango aproximado de concentraciones a ser medidas. También se verifica que el trazador interno no esté presente en las matrices de interés; este trazador interno es un elemento que, en cada muestra, se añade con una concentración conocida y que se utiliza para corregir las derivas instrumentales que puedan ocurrir a lo largo de la medida. La sintonización para conseguir los parámetros óptimos del equipo se realiza manualmente; para ello, el programa informático ofrece la posibilidad de monitorear la respuesta del sistema en tiempo real. Se utiliza una solución con elementos de masas bajas, medias y altas (p. ej., $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Be, Co, In, Ce y U) para registrar la respuesta del sistema. Esa respuesta se mejora hasta que se alcanzan las especificaciones del fabricante (sensibilidad). Se monitorea también el cociente de masas 140/156 correspondiente a Ce/CeO ya que es indicador del nivel de óxidos en general; este parámetro debe mantenerse por debajo del 2%. Para ello, se ajusta

el flujo de argón de la muestra. En la Tabla 7.1 se da un ejemplo de los parámetros más relevantes para un equipo comercial en un modo de trabajo para muestras de aguas

Tabla 7.1. Detalles del sistema ICP-MS X7 SERIES ICP MS, Thermo Elemental (UK) [5]

Interfase	Conos de Ni
Detector	Modalidad: simultánea y de salto entre picos: 1 canal / pico 60 barridos, 10 ms por pico (24 s total), repetido \times 3
Cámara de nebulización	Cámara con bola de impacto y refrigeración Peltier a 3 °C
ICP	Generador de estado sólido, 27,12 MHz a 1,2 kW
Nebulizador	Concéntrico, 0,9 L min ⁻¹ Ar
Antorcha	1,5 mm (cuarzo), 12 L min ⁻¹ Ar enfriamiento, 0,7 L min ⁻¹ Ar auxiliar

Debido al tiempo que toma el *spray* en atravesar la cámara de nebulización, otros de los parámetros fundamentales a considerar son los tiempos de entrada y toma de muestra. Éstos se determinan observando la respuesta en tiempo real de un patrón multielemental (Figura 7.9) y se optimizan variando la velocidad de la bomba peristáltica.

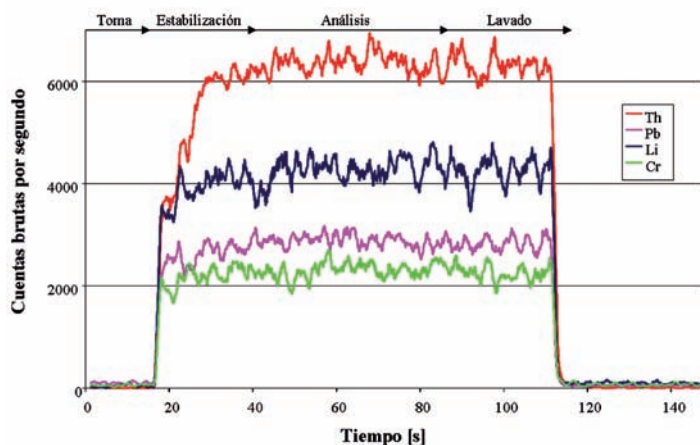


Figura 7.9. Determinación de los tiempos de toma de muestra, estabilización, medida y lavado.

7.8. TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS Y PROCEDIMIENTO DE MEDIDA PARA MUESTRAS ACUOSAS.

A continuación se describe una lista general y simplificada de pasos que se deben seguir para realizar mediciones cuantitativas de concentraciones elementales de arsénico en muestras acuosas por medio de la técnica de ICP-MS. Para elementos con varios isótopos u otro tipo de muestra, la metodología debe ser ampliada [3,4].

7.8.1. Filtrado, centrifugado o decantado de las muestras para eliminar partículas en suspensión.

7.8.2. Caracterización: medición de pH, sólidos totales en solución (TDS) a través de la conductividad eléctrica (EC).

7.8.3. TDS debe ser menor al 0,2% (peso/volumen) para poder ser introducida al sistema.

- 7.8.4. Acidular hasta 2 a 4% de HNO_3 (de alta pureza).
- 7.8.5. Los patrones y las muestras aciduladas se deben guardar en refrigeración (4 °C) en recipientes plásticos (*nalgene* o equivalente).
- 7.8.6. Los patrones de calibración se elaboran a partir de patrones para ICP-MS (patrones para ICP-OES o AA como alternativa). Verificar si los patrones están originalmente en ácido nítrico (2%) para que todas las soluciones (muestras y patrones) tengan aproximadamente las mismas matrices.
- 7.8.7. Utilizar agua desionizada (18 M Ω . cm) para la preparación de todos los patrones y muestras (en caso de tener que diluir).
- 7.8.8. Sobre todo en el caso de muestras salinas, reproducir la matriz de la muestra de interés (por ejemplo agregando NaCl en concentración adecuada) para producir así patrones con los mismos efectos de matriz (*matrix matched standards*).
- 7.8.9. Para medir arsénico en muestras con contenidos considerables de cloruros (u otras formas de cloro), puede ser necesario eliminar la interferencia de la molécula ^{35}Cl - ^{40}Ar , que al tener masa 75 coincide con el único isótopo natural de arsénico (^{75}As). Esto se discutirá más adelante.
- 7.8.10. Agregar a cada alícuota de medida una cantidad conocida y uniforme de trazador(es) o estándar(es) interno(s). El estándar interno se selecciona de tal modo que tenga masa, potencial de ionización y estados de carga lo más similares posible al analito de interés. En general, se utilizan In, Ce ó Ga por ser relativamente escasos en muestras ambientales y por su probada eficacia como trazadores internos.
- 7.8.11. Para la selección del estándar interno se debe tener cuidado con las interferencias isobáricas y se debe utilizar uno que no esté presente en las muestras de interés. También se ha de considerar que la concentración del trazador interno debe ser aproximadamente del mismo orden de magnitud que la del analito en la muestra.
- 7.8.12. Tanto los patrones de las curvas de calibración como las demás medidas se deben renormalizar en función de la relación entre la señal del trazador interno en cada muestra con respecto a dicha señal en la muestra inicial (esto da cuenta de las fluctuaciones y derivas del sistema).
- 7.8.13. Se debe comenzar por medir los blancos analíticos y luego los patrones de calibración en concentraciones crecientes.
- 7.8.14. Se debe lavar el sistema entre muestra y muestra, sin excepción, con agua desionizada con 2% HNO_3 .
- 7.8.15. Cada medida se compone de entre 3 y 12 medidas secuenciales producidas en los barridos correspondientes. Esto se realiza para cada analito de interés.
- 7.8.16. El número de barridos se establece como un compromiso entre la cantidad de isótopos que se desea medir y el tiempo de medida en cada barrido (*sweep*). El barrido no es continuo sino que hay saltos entre las regiones de interés que están en torno a las masas seleccionadas.
- 7.8.17. En la Figura 7.10 se observa un ejemplo de selección de las zonas de interés (en azul) y se pueden observar también las masas que no se pueden determinar por esta técnica en su modo de operación estándar (en color rosa).
- 7.8.18. La concentración del analito se cuantifica en función de la altura del pico y no del área del mismo (Figura 7.11.a). Esa altura (cuentas o eventos) se lleva a concentraciones mediante el uso de una curva de calibración (Figura 7.11.b).

Start Mass	End Mass	Dwell (ms)	Channels per AMU	Resolution
6.62	7.42	0.3	25	Standard
8.61	9.41	0.3	25	Standard
22.59	23.39	0.3	25	Standard
26.58	27.38	0.3	25	Standard
51.54	52.34	0.3	25	Standard
54.54	55.34	0.3	25	Standard



Figura 7.10. Ejemplo de selección de las zonas de interés (en azul) y masas que no se pueden determinar por esta técnica en su modo de operación estándar (en color rosa).

7.8.19. Se construyen curvas de calibración con los patrones del elemento de interés en el rango adecuado. La respuesta de estos espectrómetros tiene un amplio rango lineal.

7.8.20. Realizar una curva cruzada que compatibiliza las medidas obtenidas mediante el contador de eventos y el modo analógico de medida (Figura 7.11.b Izq.).

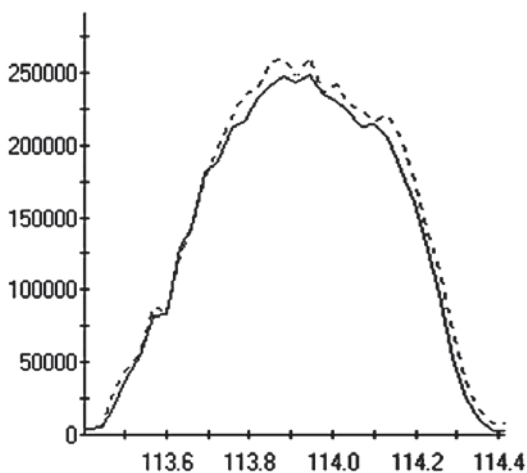


Figura 7.11.a. Espectro de masas (cps en función de masa atómica) en la región del ^{114}Cd (28,73% de abundancia) y posible interferencia isobárica del ^{114}Sn (con 0,65% de abundancia). La línea continua representa la señal del contador de pulsos, mientras que la punteada representa la medida hecha con el modo analógico.

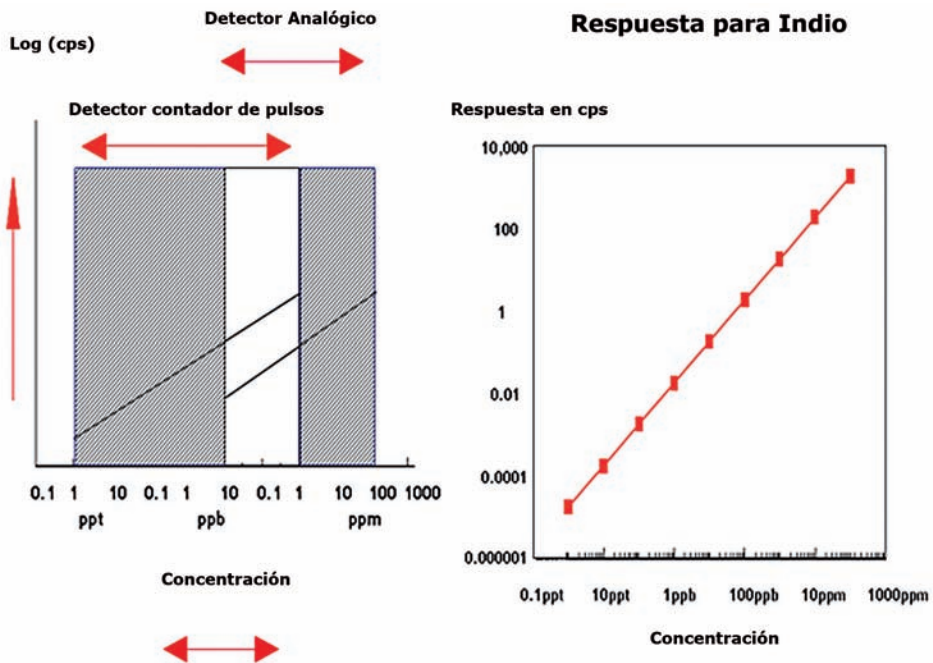


Figura 7.11.b. Curvas de calibración de un ICP-MS comercial. Izq.: curva de calibración cruzada de los modos contador de pulsos y analógico. Der.: curva final para todo el rango de concentraciones de interés; caso del ^{115}In .

7.8.21. Los resultados se reportan con el correspondiente RSD (%) de los barridos correspondientes, lo que indica la precisión del método.

7.8.22. Realizar repeticiones de medidas (no consecutivas) a un conjunto aleatorio de muestras y patrones (10 a 20% de ellos), distribuidas a lo largo de la secuencia de medición (esto indicará la estabilidad del sistema durante el tiempo de medición).

7.8.23. Realizar réplicas analíticas tanto de patrones de la curva de calibración como de un subconjunto aleatorio de muestras (10 a 20% de ellas). Estos resultados indicarán la homogeneidad tanto del proceso de preparación y acondicionamiento de las muestras como del proceso de medición en el ICP-MS.

7.8.24. Utilizar los resultados de los dos últimos puntos para descartar o aceptar el conjunto de medidas. Criterio usual RSD de tres repeticiones o de tres réplicas < 5 a 10% (el criterio a escoger dependerá de los objetivos del análisis).

7.8.25. Analizar material de referencia de similares características a las muestras de interés para verificar la exactitud del método.

7.8.26. En el caso de muestras con cloro, la interferencia $^{35}\text{Cl}^{40}\text{Ar}$ interfiere con la medida de ^{75}As (Figura 7.12). En ese caso, se usa la célula de reacción (o de colisión) CCT. Esto tiene poco efecto en la transmisión de los iones y disocia los poliatómicos.

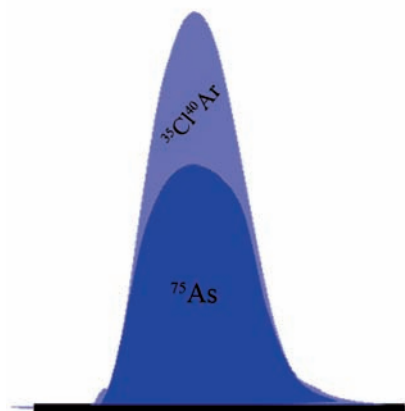


Figura 7.12. Interferencia del $^{35}\text{Cl}^{40}\text{Ar}$ en la medida del ^{75}As .

7.8.27. En caso de no contarse con celda de colisión, se procede a aplicar ecuaciones de corrección (Figura 7.13). Esto podría desmejorar un poco la precisión y el límite de detección (LD), pero es válido hasta alrededor de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (dependiendo de la matriz).

Se puede calcular la contribución del ArCl en $M=77$

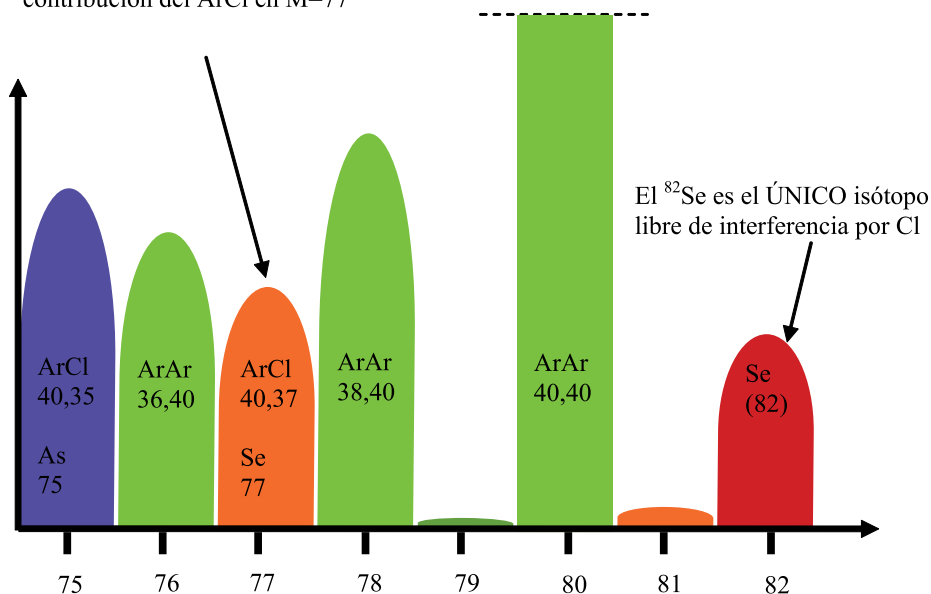


Figura 7.13. Ejemplo del uso de principios espectroscópicos para la determinación del $^{35}\text{Cl}^{40}\text{Ar}$

7.8.28. Ejemplo de las ecuaciones e ideas usadas para la determinación del ^{75}As en presencia de la interferencia poliatómica del $^{35}\text{Cl}^{40}\text{Ar}$. El ^{75}As se considera aproximadamente monoisotópico (99.6%) en una matriz con cloro. Así, las ecuaciones de corrección son las siguientes:

$^{77}Se = ^{82}Se \times \frac{Ab^{77}Se}{Ab^{82}Se}$	Calcula la contribución del ^{77}Se en la masa 77 a partir del ^{82}Se en la masa 82
$^{77}(ArCl) = ^{77}Int - ^{77}Se$	Calcula la contribución del $^{40}Ar^{37}Cl$ en la masa 77 a partir de la señal en $m = 77$
$^{75}(ArCl) = ^{77}(ArCl) \times \frac{Ab^{37}Cl}{Ab^{35}Cl}$	Calcula la contribución del $^{40}Ar^{35}Cl$ en la masa 75 a partir del $^{40}Ar^{37}Cl$
$^{75}As = ^{75}Int - ^{75}(ArCl)$	Calcula ^{75}As a partir del $^{40}Ar^{35}Cl$ y de la señal en $m = 75$

7.9. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO SOLUBLE EN AGUA MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE PLASMA INDUCTIVAMENTE ACOPLADO CON DETECTOR DE MASAS (ICP-MS) [6]

SECCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

7.9.1. Aplicación

7.9.1.1. Este método es aplicable a la determinación de trazas de metales en muestras de agua potable, superficial, subterránea y residual.

7.9.1.2. Mediante este método espectrométrico por plasma inductivamente acoplado con detector de masas se pueden determinar concentraciones de As entre 0 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$.

7.9.1.3. Los límites de cuantificación se encuentran en anexo sobre validación del método por ICP- MS.

7.9.2. Resumen del método

El método describe la determinación multielemental de trazas de arsénico por espectrometría de plasma inductivamente acoplado con detector de masas. La muestra es introducida por nebulización neumática a través de la cámara de rocío al plasma. El aerosol de la muestra es llevado al centro del plasma de argón de alta temperatura donde la muestra es atomizada e ionizada para producir una nube de iones cargados positivamente. Los iones son extraídos, identificados y cuantificados mediante un analizador de masas cuadrupolo, que puede barrer todo el rango de masas y realizar el análisis multielemental. Las cuentas obtenidas para un ion concreto se comparan con la recta de calibración para obtener la concentración del elemento en la muestra. Las interferencias isobáricas y poliatómicas potenciales se corrigen mediante ecuaciones de interferencias basadas en la abundancia isotópica natural. El uso de estándar interno compensa las interferencias físicas como: viscosidad, tensión superficial y efecto carga en el proceso de transporte de la muestra al plasma y la transferencia de iones al espectrómetro de masas [7, 8].

7.9.3. Precauciones de seguridad

7.9.3.1. Se requieren guantes quirúrgicos, mandiles, mascarilla para ácidos y gafas de seguridad (protección de radiación UV).

7.9.3.2. Cada reactivo debe ser considerado como un peligro potencial para la salud y la exposición a estos compuestos debe ser minimizada con buenas prácticas de laboratorio.

7.9.3.3. La manipulación de ácidos concentrados debe realizarse en campana extractora

de gases, y se debe evitar la inhalación, ingestión y el contacto con la piel.

7.9.3.4. Se deben lavar escrupulosamente las manos después de manipular soluciones concentradas de metales.

7.9.4. Precauciones para la operación

7.9.4.1. El espectrómetro muestra mensajes de precaución en la barra verde de la parte inferior del programa cuando el sensor detecta algún problema, haciendo posible el apagado manual del equipo antes de que se apague automáticamente.

7.9.4.2. El equipo tiene sensores para controlar el flujo y la presión del agua y argón. Si el flujo del agua es demasiado bajo para refrigerar el equipo o si el argón es insuficiente, el plasma se apagará automáticamente.

7.9.4.3. Existen sistemas de ventilación para asegurar que la temperatura interior del equipo se encuentra dentro de los límites. El equipo se apagará automáticamente si cualquiera de estos ventiladores, excepto el del cuadrupolo, fallan.

7.9.4.4. Sensores de temperatura en la extracción de gases, entrada de aire, y línea de agua apagarán el plasma en caso de sobrecalentamiento.

7.9.4.5. El interruptor manual permite el apagado instantáneo del equipo incluso si la computadora no se encuentra operativa.

7.9.4.6. Se debe controlar la concentración de ácido, ya que la nebulización continua de altas concentraciones de ácido puede atacar el interior del equipo.

7.9.4.7. La protección externa del equipo protege al usuario de riesgos mientras el equipo se encuentra en funcionamiento. La exposición a altos voltajes y radiación de radiofrecuencias que están presentes puede ser muy peligrosa.

7.9.4.8. Debido a su toxicidad, los gases del plasma y del sistema de vacío deben eliminarse a través del sistema de ventilación del instrumento conectado al sistema general de extracción del laboratorio. Si tiene lugar una ventilación incorrecta, puede causar que el líquido de las bombas, ozono y otros productos tóxicos de combustión se acumulen en el laboratorio. Se debe asegurar que el sistema de extracción de los gases funcione correctamente.

7.9.4.9. Los residuos de la cámara de nebulización contenidos en un recipiente de plástico pueden ser tóxicos. Una manipulación incorrecta de este recipiente o la mezcla de líquidos en su interior que puedan reaccionar unos con otros puede dar lugar a explosiones. La corrosión del recipiente o de los tubos de la bomba peristáltica puede dar lugar a daños en el instrumento o en el usuario. Se debe limpiar el recipiente con agua cada vez que se vacíe.

7.9.4.10. El argón que se utiliza como gas de plasma es solamente un gas peligroso si desplaza el aire que se está respirando o si no se almacena correctamente. Se debe tener especial cuidado en las precauciones siguientes:

- Asegurar que las válvulas del tanque estén cerradas y moverlas con un carrito adecuado.
- Etiquetar el tanque y almacenarlo verticalmente, fuera de fuentes de calor e ignición.

7.9.4.11. Dejar enfriar el equipo: la antorcha e interfase permanecen calientes después de que el plasma se apaga; por lo tanto, no se debe tocar la caja de la antorcha o de los conos de la interfase antes de 10 minutos después de apagar el plasma, para dejar enfriar el equipo.

7.9.4.12. El analista debe seguir estrictamente las instrucciones del espectrómetro de plasma masa a fin de minimizar los riesgos de alto voltaje, emisiones de radiofrecuencia, radiación ultravioleta y altas temperaturas.

7.9.4.13. El analista debe seguir las buenas prácticas de laboratorio y cuidados necesarios

inherentes a la determinación de trazas de metales; debe tener especial cuidado para evitar la contaminación de las muestras y pérdidas en el proceso analítico. Las fuentes potenciales de contaminación se pueden minimizar con una buena limpieza y mantenimiento en general del laboratorio.

7.9.4.14. Lavado del material de trabajo

a) El material de trabajo se enjuaga con agua de grifo inmediatamente después de que se ha usado en el análisis de metales.

b) Se remueven las etiquetas y los grabados utilizando alcohol industrial y una esponja.

c) Se enjuaga con abundante agua de grifo.

d) Se lava con una escobilla de tamaño y forma adecuada, fregando por dentro de los tubos, viales y otras pequeñas piezas, con solución de detergente especial (Extrán neutro Merck o similar).

e) Se enjuaga con abundante agua de grifo para remover los residuos de detergente.

f) Se colocan los frascos en una solución de ácido nítrico 1:3. Es aconsejable dejar los frascos y viales en el baño de ácido durante 8 horas como mínimo.

g) Se enjuaga con abundante agua de grifo.

h) Se enjuaga con porciones de agua destilada por tres veces.

i) Se enjuaga con agua ultrapura.

En general, los frascos para almacenar reactivos, vasos cónicos, tubos de centrífuga, viales y otros materiales deben seguir el mismo procedimiento de limpieza, y sólo se utilizará en el análisis de trazas de metales por espectrometría de plasma. Todo el material debe ser lavado antes de su uso y, una vez limpio, no debe ser expuesto al ambiente a excepción de lo estrictamente necesario. Los frascos utilizados para el almacenamiento de las muestras deben ser de preferencia de polietileno.

7.9.5. Interferencias

7.9.5.1. Las interferencias de masas (espectroscópicas) pueden ser isobáricas, poliatómicas, de óxidos y de iones de doble carga. Las interferencias isobáricas son causadas por isótopos de otros elementos o especies poliatómicas que tienen la misma masa - carga nominal que el analito. En este caso, se puede seleccionar un isótopo alternativo o el uso de ecuaciones de interferencias.

7.9.5.2. Las interferencias físicas están asociadas a procesos físicos que intervienen en el transporte de la muestra al plasma, procesos de conversión y la transmisión de iones de la interfase del plasma al espectrómetro de masas. Las interferencias físicas pueden ocurrir en la transferencia de la muestra al nebulizador (viscosidad), en la formación del aerosol y transporte al plasma (tensión superficial), durante el proceso de atomización e ionización en el plasma o durante la transferencia de iones de la interfase al espectrómetro de masas (efecto carga). Para minimizar estos efectos, la composición y concentración de ácido debe ser la misma para estándares, blancos y muestras. Es importante la adición de estándar interno para compensar las interferencias físicas.

7.9.5.3. Las interferencias de efecto memoria son debidas a las contribuciones de señales de analitos medidos previamente a la muestra. El efecto memoria puede ser el resultado de la deposición de la muestra en varios componentes del sistema de introducción: en el tubo de la bomba peristáltica, en la cámara de rocío, en la antorcha y en los conos de interfase. Los lugares donde se deposita la muestra son dependientes de la misma y pueden ser minimizados mediante el uso de blancos entre muestras. Se recomienda leer tres réplicas por cada dato adquirido.

7.9.6. Instrumental/materiales [8-10]

Nota: Las marcas y modelos de instrumentos son referenciales y el procedimiento puede ser aplicado con equipos similares. Tomar las marcas los modelos sólo como ejemplo.

7.9.6.1. Espectrómetro de plasma inductivamente acoplado con detector de masas Agilent Technologies modelo 7500a con sistema de antorcha blindada (Shieldtorch System). Incluye lentes Eizel y Omega.

7.9.6.2. ChemStation, programa que controla el espectrómetro de plasma.

7.9.6.3. Impresora Laserjet HP 2300d.

7.9.6.4. Bomba rotatoria.

7.9.6.5. Muestreador automático modelo G3160A Agilent Technologies para 89 muestras.

7.9.6.6. Refrigerador de agua.

7.9.6.7. Pipetas automáticas de: 10-100, 100-1000 y 500-5000 μL .

7.9.6.8. Tubos de centrífuga graduados de polipropileno con tapa de 50 mL.

7.9.6.9. Matraces volumétricos de 50 y 100 mL Clase A.

7.9.6.10. Puntas descartables para las micropipetas.

7.9.6.11. Guantes quirúrgicos libres de talco.

7.9.7. Reactivos [7-9]

Nota: Se deben utilizar reactivos de grado analítico o superior y que cumplan con normas internacionales de calidad (ACS, ISO).

Nota: Todos los reactivos se deben almacenar en recipientes adecuados, provistos de etiquetas indicando el nombre del reactivo, fecha de preparación e iniciales del analista.

7.9.7.1. Agua ultrapura grado reactivo tipo I, menor a $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ de resistividad.

7.9.7.2. Argón de alta pureza gas o liquido, al 99,99%

7.9.7.3. Ácido nítrico (HNO_3) concentrado Ultrex, ultrapuro.

7.9.7.4. Ácido nítrico (HNO_3) al 5%. Se diluyen cuidadosamente 5,0 mL de HNO_3 concentrado con agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 100 mL.

7.9.7.5. Solución de sintonización: solución de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Li, Y, Ce, Tl, Co en HNO_3 al 2%. Esta solución se usa para verificar la sintonización del espectrómetro y la calibración de masas antes de realizar el análisis.

7.9.7.6. Solución *stock* multielemental: solución de 1000 mg L^{-1} de Fe, K, Ca, Na, Mg y 100 mg L^{-1} Ag, Al, As, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Tl, V, Zn en HNO_3 al 5%.

7.9.7.7. Solución estándar multielemental. En un frasco volumétrico de 10 mL diluir 1 mL de la solución *stock* multielemental (sección 7.9.7.6) con agua ultrapura, y adicionar $200 \mu\text{L}$ de ácido nítrico concentrado.

7.9.7.8. Muestra de control (ejemplo: EPA QC 97). En un frasco volumétrico de 500 mL diluir, 5,0 mL de la muestra de control con agua ultrapura, y adicionar 1 mL de ácido nítrico concentrado.

7.9.7.9. Blancos: se requieren tres tipos de blancos para este método. Un blanco para la curva de calibración, un blanco de reactivos para el control de la contaminación en el pretratamiento de la muestra, y un blanco de lavado entre muestras para reducir las interferencias por efecto memoria del instrumento.

7.9.8. Muestreo y preservación

7.9.8.1. Debido a la elevada sensibilidad del método analítico, se debe evitar la contaminación externa. Los frascos de muestras, conservadores y material de plástico deben estar libres de metales.

7.9.8.2. Para la determinación de trazas de arsénico en agua, las muestras se preservan con ácido nítrico hasta $\text{pH} < 2$. Se añade 1 mL de ácido nítrico concentrado Ultrex o similar por litro de muestra. Se almacena por un tiempo máximo de seis meses.

7.9.8.3. Para la determinación de arsénico disuelto, la muestra se debe filtrar a través de un filtro de membrana de 0,45 μm de porosidad tan pronto como sea posible después de su recolección. Se acidifica el filtrado con ácido nítrico hasta $\text{pH} < 2$.

7.9.8.4. El área de recepción de muestras es responsable de verificar la adecuada preservación de las muestras.

7.9.9. Calibración del método [8-11]

7.9.9.1. Los estándares de calibración se preparan diariamente a partir de la solución estándar multielemental. Las soluciones estándares de calibración se preparan en tubos de centrífuga de polipropileno y se llevan hasta un volumen de 50 mL con ácido nítrico al 2% en agua ultrapura.

7.9.9.2. La calibración es independiente del método. Múltiples métodos pueden compartir la misma calibración. El enlace entre la calibración y el método se establece cuando se guarda el método.

7.9.9.3. Los niveles de calibración y rangos apropiados para las muestra son los que se indican en la Tabla 7.2.

Tabla 7.2. niveles de calibración y rangos apropiados para la calibración de las muestras para determinación por espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado.

Nivel de Calibración	1	2	3	4	5	6
Concentración de elementos trazas ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0	2	10	50	100	500
Concentración de elementos mayoritarios ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0	20	100	500	1000	5000
Vol. solución estándar multielemental ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0	10	50	250	500	2500
Vol. ácido nítrico concentrado (mL)	1	1	1	1	1	1
Vol. solución estándar interno (μL)	250	250	250	250	250	250
Vol. final (mL)	50	50	50	50	50	50

7.9.10. Uso del instrumento

7.9.10.1. Para el manejo del espectrómetro de plasma inductivamente acoplado con detector de masas consúltese el manual de operación *ChemStation*.

7.9.10.2. Se enciende la computadora y se activa la opción *ICP-MS TOP*.

7.9.10.3. Se ingresa a la opción *Method*.

7.9.10.4. Se activa la opción *Edit Entire Method*.

7.9.10.5. Se activan las opciones *Method Information*, *Interference Equation*, *Acquisition* y *Data Analysis*.

7.9.10.6. Se ingresa a la opción *Method Information*, y se escriben comentarios que se deseen guardar con el método de referencia.

7.9.10.7. Se activa la opción *Save Copy of Method With Data*. Esta opción asegura que el método se ha guardado con los archivos de los datos cada vez que se utiliza el método.

7.9.10.8. En la opción *Method Sections To Run*, se activan las opciones: *Data Acquisition* y *Data Analysis*.

7.9.10.9. En la opción *Interference Equation*, se introducen las ecuaciones de interferencia que son usadas para corregir interferencias isobáricas y poliatómicas de acuerdo a la Tabla 7.3. [8, 9, 10]

Tabla 7.3. Ecuaciones recomendadas para la corrección de las interferencias

Elemento	Ecuación de corrección de la interferencia
V	$(1,000)^{(51C)} - (3,127)^{(53C)} + (0,353)^{(52C)}$
As	$(1,000)^{(75C)} - (3,127)^{(77C)} + (2,736)^{(82C)} - (2,760)^{(83C)}$
Se	$(1,000)^{(82C)} - (1,01)^{(83C)}$
Mo	$(1,000)^{(98C)} - (0,146)^{(99C)}$
Cd	$(1,000)^{(111C)} - (1,073)^{(108C)} + (0,764)^{(106C)}$
Pb	$(1,000)^{(208C)} + (1,000)^{(207C)} + (1,000)^{(206C)}$

C = isótopo del elemento de la masa correspondiente.

7.9.10.10. Se selecciona el modo de adquisición. Hay seis modos de adquisición disponibles; el correspondiente se escoge de acuerdo al tipo de análisis que se desea llevar a cabo en cada aplicación. *Chemstation* escoge el modo *Spectrum* por defecto.

7.9.10.11. Se ingresa a la opción *Spectrum Acquisition Parameters*; aparece una tabla con los elementos seleccionados. Se activan las opciones *Set Every Mass*, en la opción *Integration Time*, se activan las opciones *Per Point 0.1 sec*, *Detector Auto*, *Repetition 3*

7.9.10.12. Se seleccionan los parámetros para el análisis cuantitativo. Se activa la opción *Periodic Table* en la zona de masas (esquina inferior izquierda). La selección de masas aparece en forma de tabla periódica.

7.9.10.13. Se seleccionan *Clear All* y *Chemstation*, que elimina todos los elementos o masas que se encuentren seleccionados en el método por defecto. La tabla periódica aparece vacía.

7.9.10.14. Se seleccionan los elementos en cada uno de los botones en la tabla periódica, Los elementos seleccionados cambian de gris a rojo. Los isótopos de cada elemento son seleccionados automáticamente de acuerdo con los isótopos recomendados (véase Tabla de Abundancia Isotópica Relativa).

7.9.10.15. Seleccionando 2 veces en el botón elemento se seleccionan los isótopos adicionales.

7.9.10.16. Se abre una ventana para seleccionar los diferentes isótopos, se selecciona el botón correspondiente a cada isótopo y aparecerán marcas rojas en cada uno de ellos. Se puede seleccionar uno o todos los isótopos de cada elemento.

7.9.10.17. Seleccionar *Element Information* para tener más información sobre el elemento. Aparecerá la ventana de *ICP-MS DATA BASE* (información del elemento). La información que se muestra es de tres tipos: información del elemento, interferencias y AMU (abundancia de un elemento a una masa específica).

7.9.10.18. Cerrar la ventana de *ICP-MS DATABASE*, haciendo doble *click* en la esquina superior izquierda. *Chem Station* vuelve a la opción *Select Isotopes*.

Tabla 7.4. Adquisición de masas para cada elemento con los tiempos de integración correspondientes [8-10].

<i>Mass Element</i>	Integración		<i>Detector</i>
	<i>per Point</i>	<i>per Mass</i>	
⁶ Li	0,1000	0,3000	Auto
⁹ Be	0,1000	0,3000	Auto
²⁷ Al	0,1000	0,3000	Auto
⁴⁵ Sc	0,1000	0,3000	Auto
⁵¹ V	0,1000	0,3000	Auto
⁵² (V)	0,1000	0,3000	Auto
⁵³ Cr	0,1000	0,3000	Auto
⁵⁵ Mn	0,1000	0,3000	Auto
⁵⁹ Co	0,1000	0,3000	Auto
⁶⁰ Ni	0,1000	0,3000	Auto
⁶² Ni	0,1000	0,3000	Auto
⁶³ Cu	0,1000	0,3000	Auto
⁶⁵ Cu	0,1000	0,3000	Auto
⁶⁶ Zn	0,1000	0,3000	Auto
⁶⁷ Zn	0,1000	0,3000	Auto
⁶⁸ Zn	0,1000	0,3000	Auto
⁷² Ge	0,3000	0,9000	Auto
⁷⁵ As	0,3000	0,9000	Auto
⁷⁷ (As)	0,3000	0,9000	Auto
⁸² Se	0,3000	0,9000	Auto
⁸³ (Se)	0,3000	0,9000	Auto
⁸⁹ Y	0,1000	0,3000	Auto
⁹⁵ Mo	0,1000	0,3000	Auto
⁹⁷ Mo	0,1000	0,3000	Auto
⁹⁸ Mo	0,1000	0,3000	Auto
⁹⁹ Ru	0,1000	0,3000	Auto
¹⁰⁵ Pd	0,1000	0,3000	Auto
¹⁰⁷ Ag	0,1000	0,3000	Auto
¹⁰⁹ Ag	0,1000	0,3000	Auto
¹¹¹ Cd	0,3000	0,9000	Auto
¹¹⁴ Cd	0,3000	0,9000	Auto
¹¹⁵ In	0,1000	0,3000	Auto
¹¹⁸ Sn	0,1000	0,3000	Auto
¹²¹ Sb	0,1000	0,300	Auto
¹²³ Sb	0,1000	0,3000	Auto
¹³⁵ Ba	0,1000	0,3000	Auto
¹³⁷ Ba	0,1000	0,3000	Auto
¹⁵⁹ Tb	0,1000	0,3000	Auto
²⁰² Hg	1,0000	3,0000	Auto
²⁰³ Tl	0,1000	0,3000	Auto
²⁰⁵ Tl	0,1000	0,3000	Auto
²⁰⁶⁻²⁰⁸ Pb	0,1000	0,3000	Auto
²⁰⁹ Bi	0,1000	0,3000	Auto

7.9.10.19. Seleccionar todos los isótopos que se deseen analizar para ese elemento, y finalmente seleccionar la opción *Mass Table*.

7.9.10.20. Se ingresa a la opción *Spectrum Acquisition Parameters*, seleccionar *Full Quant* en el esquema del pico (casilla final izquierda). *Chem Station* mostrará los 3 puntos del pico centrales. La anchura de cada barra es de 0,05 AMU.

7.9.10.21. Se selecciona el modo del detector: seleccionar las masas en la lista para las que se desea utilizar el modo analógico o auto.

7.9.10.22. Se activa la opción *Peristaltic Pump Program* y se ingresan los siguientes datos:

Before Acquisition			
<i>Uptake Speed</i>	0,4 rps		
<i>Uptake Time</i>	30 sec		
<i>Stabilization Time</i>	40 sec		
After Acquisition (Probe Rinse)			
<i>Rinse Speed</i>	0,30 rps		
<i>Rinse Time Sample</i>	5 sec		
<i>Rinse Time (STD)</i>	5 sec		
After Acquisition Rinse			
<i>Rinse Vial</i>	1	2	3
<i>Rinse Speed</i>	0,50	0,00	0,00
<i>Rinse Time Vial</i>	30	0	0
<i>Rinse Time Probe</i>	5	0	0

7.9.10.23. Se ingresa a la opción *Set Correction* y se activa la opción *Interference Correction*.

7.9.10.24. Seleccionar informes. El programa *Chem Station* permite varias opciones para generar un informe de resultados como parte del método. Se pueden generar informes destinados a la pantalla, a la impresora o a un archivo que se especifique.

7.9.10.25. Se ingresa a la opción *Select Report* y se activa *Quantitation Report* para generar un informe de cuantificación por defecto.

7.9.10.26. Se ingresa a la opción *Fullquant Report Option* en la opción *Style: Summary* y en la opción *Destination* se activan *Screen*, *Printer* y *File*, ingresar el número de lote de muestra.

7.9.10.27. Se ingresa a la opción *Edit Analysis Parameters* y se activa la opción *Fullquant*.

7.9.10.28. Se ingresa a la opción *Edit Calibration Parameters* y se activa la opción *Calibration Table Edit*.

7.9.10.29. Se ingresa a la opción *Edit Levels* y se introducen: la masa del elemento, el tipo de curva, unidades de concentración, estándar interno y las concentraciones de los estándares de calibración y estándar interno en una tabla.

7.9.10.30. Se ingresa a la opción *Calibration Table* y a la opción *Done*.

7.9.10.31. Se ingresa a la opción *Blank Conc. Substraction* y se cliquesa OK.

7.9.10.32. Se ingresa a la opción *Method Save Options* y se activan las opciones *Alert Meth-Calib Link Update*, usar el mismo nombre para *Met Calib*, *Alert* cuando el método es sobrescrito, *Alert* cuando *Calib* es sobrescrito.

7.9.10.33. Se da un nombre a la calibración. En la opción *Save Calibration As* se escribe el nombre de la calibración, que es igual al nombre del método.

7.9.11. Sintonización del equipo

La sintonización del equipo permite optimizar la sensibilidad, verificar la correcta calibración de masas, verificar la respuesta apropiada de la relación iónica y minimizar las interferencias. La sintonización considera los siguientes aspectos:

7.9.11.1. Los parámetros del plasma:

- Potencia de RF: controla la potencia de RF suministrada a la bobina. Una mayor potencia de RF incrementa la sensibilidad y reduce el nivel de óxidos y de doble carga. Sin embargo, la sensibilidad de las masas bajas puede decrecer cuando la potencia de RF es demasiado alta.

- Acoplamiento de RF: controla la potencia de RF reflejada de retorno de la bobina de inducción. Un valor aproximado es de 1,8 V; no se deben utilizar valores de RF 1,7 o inferior, ya que, de otra manera, el plasma puede apagarse y el tiempo de vida del generador de potencia se acorta.

- Distancia al cono de muestreo: controla la distancia entre el extremo de la bobina de inducción y la punta del cono de muestreo. Una distancia pequeña incrementa la sensibilidad, pero el nivel de óxidos se incrementa también.

- Antorcha H, Antorcha V: controla la posición de la antorcha. Los parámetros de *torch H* y *torch V* miden el movimiento vertical y horizontal de la antorcha relativa a la interfase.

- Gas de nebulización (*carrier gas*): controla la eficacia de la nebulización de la muestra y la velocidad de toma de muestra cuando se utiliza la auto-aspiración. Un flujo alto de gas incrementa la sensibilidad para masas bajas, pero un flujo demasiado alto de nebulización incrementará los óxidos e iones de doble carga.

- Gas adicional (*makeup gas*): el gas adicional Ar se introduce en la cámara de nebulización y se mezcla con el gas de nebulización. Cuando la presión de entrada del Ar no es suficientemente alta para obtener un flujo de gas de nebulización suficiente, se usa el gas adicional (p. ej., condiciones de plasma frío).

- Bomba peristáltica 1 (*Peri pump1*): controla la velocidad de introducción de muestras y el drenaje de la cámara de nebulización. Afecta la sensibilidad, la estabilidad de la señal y la formación de óxidos y óxidos de doble carga. Una velocidad más alta incrementa la sensibilidad pero una velocidad demasiado alta puede decrecerla. Velocidades altas incrementan la formación de óxidos y óxidos de doble carga.

- Bomba peristáltica 2 (*Peri pump2*): se puede usar cuando una segunda bomba peristáltica se encuentra instalada en el equipo; de esta forma es posible acortar el tiempo de lavado o de toma de muestra.

- Control de temperatura de la cámara de nebulización (*S/C Temp*): controla la temperatura de la cámara de nebulización. Disminuyendo la temperatura de la cámara de nebulización se decrece la presión de vapor de la muestra y se elimina más agua, reduciendo el nivel de óxidos. Debe situarse en 2 °C para evitar la formación de hielo en disoluciones acuosas. Cuando se usen disolventes orgánicos, se debe situar la temperatura en -5 °C.

7.9.11.2. Lentes iónicos:

- *Extract 1*: extrae los iones del plasma y los acelera hacia los lentes Einzel. Se debe ajustar para obtener buena sensibilidad para todas las masas.

- *Extract 2*: extrae los iones del plasma y los acelera hacia los lentes Einzel. Se debe ajustar para obtener buena sensibilidad para todas las masas.

- *Einzel 1.3*: enfoca el haz iónico desde el lente de extracción y lo introduce en los lentes Omega.

- *Einzel 2*: enfoca el haz iónico desde los lentes de extracción y los introduce en los lentes Omega. Ajustar para tener buena sensibilidad en todas las masas.

- *Omega Bias*: Proporciona el mismo potencial a la entrada y salida del bloque de lentes Omega. Debe utilizarse con voltajes más positivos de -40 V. Voltajes más negativos, incrementan la sensibilidad pero pueden incrementar el fondo.

- *Omega (+)*, *Omega (-)*: separan los iones de los fotones e introducen los iones en el cuadrupolo. Se deben ajustar para tener buena sensibilidad en todas las masas.

- *QP Focus*: desacelera y enfoca los iones para introducirlos en el cuadrupolo. Se debe ajustar para obtener buena sensibilidad en todas las masas.

- *Plate Bias*: reenfoca el haz iónico. Un valor típico es 0 V sin el sistema de *ShieldTorch*. Pueden usarse muy diferentes voltajes para ajustar el perfil de pico y la resolución. Este

voltaje debe ser el mismo que el usado del *QP Bias* para evitar que suba el fondo.

- *QP Bias*: controla la velocidad de los iones según pasan a través del cuadrupolo. Un valor típico es 0 V sin el sistema de *ShieldTorch*. Se puede usar hasta 6 V cuando el perfil de pico y la resolución no son buenas. Este voltaje debe ser el mismo que en el *Plate Bias* para evitar fondos altos.

7.9.11.3. Sintonización de la óptica iónica (lentes de extracción y enfoque, lentes Omega).

7.9.11.4. Sintonización del analizador de masas de cuadrupolo (resolución y respuesta de masas óptima).

7.9.11.5. Sintonización del detector (sensibilidad óptima, optimización de la linealidad del modo dual).

7.9.11.6. Guardar las condiciones de sintonización.

7.9.11.7. Generar un reporte de sintonización.

7.9.11.8. Procedimiento de sintonización:

- Encender el plasma, calentar el equipo hasta que todo el panel esté verde y la temperatura sea de aproximadamente 2.0-2.5 °C, aspirar ácido nítrico al 5% (en la posición 1 con la opción *ALS* por 15 minutos, con la opción *ALS* activar la posición *home*, cerrar la ventana *ICP-MS Instrument Control*.

- Seleccionar la opción *tune/File*, luego la opción *Load Tune values*, activar *Autotune* y la opción *Run*. En la posición 1 del automuestreador aspirar la solución de sintonización de 10 µg L⁻¹ de Li, Y, Ce, Tl, Co. Verificar los parámetros obtenidos y los RSDs. Generar y evaluar el reporte de sintonización

7.9.11.9. Parámetros de sintonización que pueden servir de guía para su aceptación.

Sensibilidad: Li > 5,000 cts/0,1 seg/10 µg L⁻¹

Y > 10,000 cts/0,1 seg/10 µg L⁻¹

Tl > 5,000 cts/0,1 seg/10 µg L⁻¹

Precisión: Li < 15 % RSD (0,1 seg tiempo de integración)

Y < 15% RSD (“)

Tl < 15% RSD (“)

Óxidos: < 1%

Doble Carga: Ce⁺⁺/Ce⁺ < 5.0%

Background: Li < 30 cps

Y < 15 cps

Tl < 15 cps

Resolución de masas: W-10% 0,7-0,8 AMU

Masas Asís: masa nominal +/- 0,1 AMU para ⁷Li, ⁸⁹Y y ²⁰⁵Tl

7.9.11.10. Verificación de la Sintonización:

- Después del calentamiento y verificación de la sintonización de equipo con los parámetros más importantes, se guarda el reporte.

- La resolución a masas bajas esta indicado por los isótopos de Mg 24, 25,26.

- La resolución a masas altas esta indicado por los isótopos de Pb 206, 207, 208.

Para tener una buena *performance*, ajustar el equipo para tener un ancho de pico de aproximadamente 0,75 AMU a una altura de pico de 5%. Ajustar la calibración de masas si están desfasadas más de 0,1 AMU por unidad de masa. La estabilidad del instrumento debe ser verificada aspirando la solución de sintonización por lo menos 5 veces, con resultados de desviación de estándar para todos los analitos de menos de 5 %.

7.9.12. Procedimiento de análisis [9-11]

7.9.12.1. Lista de chequeo inicial:

- Asegurarse de que el equipo este encendido.
- Asegurarse de que el muestreador automático, la computadora, el recirculador de agua y el extractor estén correctamente conectados.
- Abrir la llave del tubo de argón y verificar que el manómetro registre (en la caseta).
- Encender el recirculador de agua, el extractor y el muestreador automático
- Verificar el contenido de la solución de ácido nítrico al 5% en el recipiente de lavado.
- Asegurarse de que el reservorio de drenaje este vacío.
- Asegurarse de que los tubos de la bomba peristáltica estén correctamente asegurados.
- Encender la impresora y computadora.
- Activar la opción *Chemstation software*; aparecerá la ventana *ICP-MSTop*.
- Activar la opción *Instrument control*.
- Activar la opción *Plasma on*.

7.9.13. Inicio y sintonización

- Revisar la lista de chequeo de inicio.
- Encender el plasma y calentar el instrumento; activar la opción *ALS* en agua ultrapura.
- Seleccionar *Tune* y activar la opción *Autotune*.

7.9.13.1. Sintonización de Modo *pulso/Analógico (P/A)*

- Aspirar una solución de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de todos los analitos y correr el *AUTOTUNE P/A*.
- Archivar el reporte de sintonización.

7.9.13.2. Apagado del equipo:

- Activar la opción *ALS* en solución de enjuague; esperar 1 min.
- Activar la opción *Instrument control*.
- Activar la opción *Plasma off*.
- Liberar los tubos peristálticos.
- Apagar el recirculador de agua, el extractor y el muestreador automático.
- Apagar la computadora.
- Cerrar la llave del balón de argón.

7.9.13.3. Análisis de muestras

- Cuando se quiere analizar un lote de muestras automáticamente, se usa una secuencia preestablecida.
- Se crea un archivo de la secuencia de trabajo. El muestreador aspira automáticamente las muestras de acuerdo al orden especificado.
- Se edita un archivo que incluye el orden numérico del muestreador automático, el método de análisis, el código de la muestra; en los estándares se indican los niveles de calibración y diluciones en las muestras y blancos.
- Se imprime el archivo de la secuencia y se guarda asignándole un nombre.
- Para cargar una secuencia grabada se usa la opción *Load Sequence* y se activa el nombre de la misma.
- Se ejecuta la secuencia mediante la opción *Run Sequence*.
- Revisar la curva de calibración para cada parámetro en la opción *offline Data Análisis* y los controles: blancos, adiciones, duplicados y muestras de control.

7.9.14. Análisis de datos [11]

- #### 7.9.14.1. Los cálculos para la determinación de las concentraciones registradas por el equipo se obtienen en el software *ChemStation* del espectrómetro.

7.9.14.2. El programa *Laboper* desarrollado por el CEPIS/LAB permite importar los *archivos de extensión prn* del software *AAWinLab* y emitir el reporte final de resultados. La precisión del resultado se debe reportar en $\mu\text{g L}^{-1} \pm I$.

7.9.14.3. Se ingresa al programa *Laboper*.

7.9.14.4. Se ingresa el *login* y el *password* del usuario (previamente asignados por el laboratorio).

7.9.14.5. Se activa la opción *calcular parámetros* y se ingresa a la opción *Área Metales*.

7.9.14.6. Se activa la opción *importar resultados* y se ingresa a la opción *importar desde el archivo*. El programa se dirigirá al subdirectorio, en el cual se encuentran los archivos a importar.

7.9.14.7. Se selecciona el archivo de interés y se activa la opción *iniciar proceso*. Una vez finalizado el proceso, el programa emitirá el mensaje *fin del proceso*. Se activan las opciones *aceptar* y *salir*.

7.9.14.8. Se activa la opción *correlativo de muestra* y una vez que el cursor se ubique en el casillero a la derecha, escribir el número de la muestra a reportar (en el caso de un lote de muestras, escribir el número de la primera muestra del lote).

7.9.14.9. Se activa la opción ver parámetros. A continuación el programa mostrará los resultados procesados.

7.9.14.10. Se ingresa a la opción *hoja resultados parcial* y se activa la opción *imprimir*. Automáticamente se generará una hoja de cálculo con el reporte de resultados final. Se ingresa a la opción *guardar como* y se selecciona la ruta en la que se grabará el resultado. El resultado se guarda activando la opción *aceptar*.

7.9.14.11. Se ingresa a la opción *archivo* y se activa la opción *salir* para finalizar el proceso.

7.9.14.12. Los resultados que se generan del programa *ChemStation* se almacenan en el disco duro de la computadora asociada al equipo de medición y en la red del laboratorio, y se genera una copia impresa la cual se almacena en el *área de ICP*. Los resultados finales que se generan del programa *Laboper* se almacenan en la red del laboratorio y se guarda una copia en CD, y se genera una copia impresa la cual se almacena en el registro Resultado Análisis de metales.

7.9.15. Límite de detección

Los límites de detección del método (LDM) se calculan de acuerdo al procedimiento descrito en el Manual de control de calidad analítica del CEPIS/LAB (C-5) [12].

SECCIÓN DE CONTROL DE CALIDAD [12]

7.9.16. Control de la exactitud

Para comprobar la exactitud del análisis se puede usar una muestra de control de la EPA (*Environmental Protection Agency* de los EE.UU.) o una muestra de control preparada en el laboratorio u otro material de referencia. Se manipula el contenido de la ampolla según las instrucciones y se analiza como se describe en la *Sección de procedimiento*. Se compara el resultado con su valor de referencia y límites de aceptación. Los resultados obtenidos deben estar dentro de los límites de control establecidos. Cuando el resultado no se encuentre dentro del rango de los límites, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis. Los límites de control se verifican anualmente o si se realizan modificaciones en el método. La muestra de control se analiza cada 15 días.

7.9.17. Control de la precisión

En el caso del análisis de una serie de muestras, se debe realizar un duplicado después de cada 10 muestras. El porcentaje de la desviación promedio relativa (RPD) no debe ser mayor del 10%. Sólo para los duplicados cuyas concentraciones se encuentren en el orden de 1 y 5 veces el límite de detección del método (LDM), el porcentaje RPD puede ser menor o igual a 20%.

$$RPD = \frac{C_1 - C_{1-d}}{(C_1 + C_{1-d})/2} * 100 \quad (7.1)$$

donde:

RPD: desviación promedio relativa

C₁: concentración de la muestra

C_{1-d}: concentración de la muestra duplicada

De no cumplirse esta regla, se debe repetir el análisis de la muestra y su duplicado. En caso contrario, se debe repetir el lote de muestras analizadas.

7.9.18. Adición de estándar

En cada lote de muestras se analiza una muestra por duplicado; al duplicado se le agregan 200 µL de solución estándar multielemental 10 mg L⁻¹. El porcentaje de recuperación del estándar debe estar entre el 90 y el 110 %. De no cumplirse esta regla, se debe repetir el análisis de la muestra y su duplicado con la adición. En caso de que no se logre la recuperación esperada, se debe repetir el lote de muestras analizadas.

7.9.19. Control de blancos

En cada lote de muestras se analiza un blanco de trabajo; los blancos analíticos deben estar preparados con agua ultrapura en cada lote de muestra y tratados de la misma forma que las muestras, para identificar posibles fuentes de contaminación (blanco de reactivos del método). El resultado obtenido debe encontrarse dentro de los límites de control (carta de control, control de calidad, control de blancos). Cuando el resultado obtenido no se encuentre dentro de los límites de control, se debe determinar la fuente de contaminación y repetir el lote de muestras.

7.9.20. Estándares de verificación

La curva de calibración se verifica con 1 estándar de 40 µg L⁻¹ con cada lote de muestras. Los estándares de verificación se preparan a partir de una solución madre diferente a la utilizada para la preparación de la curva de calibración. El valor obtenido no debe diferir de ± 10% del valor del estándar. En caso contrario, preparar una nueva curva de calibración. Si es necesario realizar acciones correctivas, éstas deben estar documentadas.

7.9.21. Cartas de control

Se debe mantener al día las cartas de control para los blancos, las muestras duplicadas y los estándares de verificación. Calcular los límites de control y advertencia, y construir la carta de control como se indica en el manual de control de calidad analítica del laboratorio. Inmediatamente después de analizar las muestras control, graficar el valor en la carta de

control. Se debe tomar una acción correctiva en los siguientes casos:

- Si el valor determinado está fuera de los límites de control, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis.
- Si 2 de 3 valores determinados sucesivamente están fuera de los límites de advertencia, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis.
- Si 7 de 8 valores determinados sucesivamente se encuentran al mismo lado de la línea promedio, se debe revisar el procedimiento.

REFERENCIAS

1. Mermet J. M., 1999. Fundamental principles of inductively coupled plasmas. En: *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*. Steve J. Hill. Sheffield Academic Press and CRC Press. págs. 35-70.
2. Browner R.F.: Aerosol generation and samples transport in plasma spectrometry. En: *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*. Steve J. Hill. Sheffield Academic Press and CRC Press, 1999, págs. 98-118.
3. Jarvis K. E., Gray A. L. and Houk R. S., 1996. *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. Blakie Academic and Professional, Chapman Hall.
4. Más J. L. 2002. *Detección de 99_{Tc} por ICP-MS*. Tesis Doctoral. Dpto. Física Atómica Molecular y Nuclear. Universidad de Sevilla, España.
5. Thermo Elemental., 2001. *ICP-MS Application Notes*. S311AN Issue 1. June 2001.
6. CEPIS/SDE/OPS, 2005. *Procedimiento Normalizado de Operación para la Determinación de Trazas de Metales por el Método de Espectrometría de Plasma Inductivamente Acoplado con Detector de Masas*.
7. American Public Health Association, 1998. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20. Edition.
8. EPA Method 200.8, 1999. 20th Edition *Determination of Trace Metals in Waters and Wastes by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectroscopy*. http://www.caslab.com/EPA-Methods/PDF/200_8.pdf
9. Agilent Technologies, 2003. *Manuales del equipo de ICP Masa Modelo 7500*.
10. Agilent Technologies, 2003. *Manual de Operacion ChemStation (G1834B) Agilent 7500 ICP-MS*.
11. CEPIS/SDE/OPS, 2000. *Manual LABOPER*. Lima; CEPIS.
12. CEPIS/SDE/OPS, 1999. *Manual de Control de Calidad Analítica*. Lima.

Capítulo 8

Especiación de arsénico mediante técnicas acopladas

SILVIA S. FARÍAS

8.1. INTRODUCCIÓN

Hasta hace pocos años, la química analítica tenía como objetivo la determinación elemental a nivel de trazas y ultratrazas de elementos, enfocando las investigaciones y desarrollos hacia el incremento de sensibilidad de las técnicas instrumentales debido a que se reconocía que la presencia de ciertos elementos, aún en muy bajos niveles, en las diversas matrices de estudio, podían tener efectos tanto beneficiosos como perjudiciales hacia los seres vivos y el ambiente.

En los años ´60 las investigaciones empezaron a tomar en cuenta la posibilidad de que los elementos totales a nivel de trazas podían tener diferentes características dependiendo de la especie química en la que se encontraban, surgiendo así la necesidad de identificarlas. Esto ha dado origen a una rama de la química analítica, que se encuentra en creciente expansión, a la que se denomina “Especiación”, un término que indica que las formas químicas en las que se puede presentar un elemento deben ser consideradas individualmente. En la actualidad, la mayor parte de las investigaciones sobre análisis elemental a nivel de trazas están casi exclusivamente relacionadas con la determinación de especies.

La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) ha definido la especiación química elemental como el conjunto de actividades analíticas de identificación y/o medida de cantidades de una o más especies químicas individuales en una muestra. La definición de especies está basada en varios niveles diferentes de estructuras atómicas y moleculares donde las formas químicas de un mismo elemento son manifiestas. Las diferencias pueden ser consideradas a niveles de: (1) composición isotópica; (2) estado electrónico o de oxidación; (3) compuestos inorgánicos y orgánicos y sus complejos; (4) especies organometálicas y (5) compuestos y complejos macromoleculares [1].

Estos niveles estructurales son importantes en diferentes áreas; por ejemplo, la composición isotópica es relevante desde el punto de vista teórico así como en química física y ambiental; la especiación elemental a nivel macromolecular tiene sentido biológico en fisiología, bioquímica y nutrición. Por otra parte, el estado de valencia y la especiación inorgánica y organometálica tiene importancia fundamental en la determinación de bioaccesibilidad y toxicidad de metales y metaloides en alimentos, de su movilidad ambiental, así como también en campos clínicos y bioquímicos.

La especiación es fundamentalmente la identificación y determinación de formas fisicoquímicas individuales de los elementos presentes en una muestra; aunque la

determinación de la concentración total de elementos a nivel de trazas es todavía importante, el conocimiento de la especiación brinda información relevante en estudios de bioaccesibilidad, biodisponibilidad, toxicidad, movilidad y bioacumulación [2].

La determinación de las especies tiene mucha importancia en la evaluación de tratamientos de aguas y suelos, para estudiar el transporte de los elementos en el medio ambiente y, fundamentalmente, para estudiar la influencia de las distintas especies en la cadena trófica y evaluar sus efectos adversos. Es así como la especiación de elementos traza ha tomado trascendencia en todos los campos de la vida, incluidos los relacionados con la industria, la investigación académica, los gobiernos y los cuerpos legislativos.

Este tipo de estudios es complejo y requiere de especiales cuidados ya que usualmente se deben realizar determinaciones a nivel de ultratrazas, siendo la mayor dificultad práctica la preservación de la integridad de la muestra y las especies de interés durante el muestreo, conservación y pretratamiento; en particular, deben evitarse procesos que puedan hacer variar el pH o el estado de oxidorreducción de la muestra, que podrían producir la transformación de diferentes especies.

Así como el análisis de especiación se ha convertido en una rama importantísima de la Química Analítica, su desarrollo está supeditado a la existencia de técnicas analíticas de alta sensibilidad validadas, la aparición de materiales de referencia certificados y/o ensayos interlaboratorios que permitan evaluar las bondades de las metodologías desarrolladas. Una vez superados estos inconvenientes se transformará en la metodología de excelencia para estudios medioambientales, biológicos, alimentarios, y relacionados con contaminación metálica y organometálica.

8.2. METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA ANÁLISIS DE ESPECIACIÓN DE ARSÉNICO

El desarrollo ascendente que han experimentado las técnicas análisis de especiación se puede atribuir a la evolución exponencial que ha tenido la instrumentación analítica, con la que se logran límites de detección impensables hasta hace unas pocas décadas.

En este contexto, podemos describir las herramientas más comunes para la especiación de arsénico como aquéllas que combinan técnicas separativas acopladas a detectores de alta sensibilidad, tales como espectrometría de absorción atómica (AAS), espectrometría de fluorescencia atómica (AFS), espectrometría de emisión atómica mediante plasma inductivo (ICP-OES) y espectrometría de emisión atómica mediante plasma inductivo con detector de masas (ICP-MS). Asimismo se tienen otras técnicas como ICP-MS de tiempo de vuelo (ICP-MS-TOF), descarga luminiscente (GD) y los métodos electroquímicos (EQ).

Así, la combinación de métodos cromatográficos, tales como la cromatografía gaseosa (GC), la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la electroforesis capilar (CE) entre otras, aunadas a métodos espectroscópicos de alta sensibilidad como los mencionados más arriba, han dado origen a las técnicas acopladas, generalmente conocidas como Técnicas Acopladas o *Hyphenated Techniques*, que por su elevado poder de detección, su adecuada precisión, su alto nivel de automatización y sus tiempos de respuesta relativamente cortos se han convertido en la herramienta de elección para análisis de especies arsenicales.

Debemos mencionar también la existencia de métodos no cromatográficos que, aunque menos difundidos, resultan también útiles para análisis de especiación de arsénico. En este caso, se da importancia a la información cuantitativa acerca de las formas químicas específicas de ciertos elementos que puede proporcionar la aplicación de la química básica

en el tratamiento de las muestras. Así, pueden determinarse las especies más tóxicas, o un grupo de ellas, conjuntamente con el contenido total del analito, o distinguir entre compuestos orgánicos o inorgánicos para tener información sobre una dada muestra. De esta manera, las técnicas separativas podrían reemplazarse por extracciones selectivas, o procesos de volatilización que utilizan instrumentación más simple y económica, con tiempos de análisis menores y muchas veces resultados más exactos debidos a la simplicidad del proceso al que son sometidas las muestras. Entre los métodos descritos en la bibliografía que usan la generación de hidruros bajo distintas condiciones reductoras, podemos destacar el uso de: i) retención selectiva en fase sólida (SPE); ii) distintas reacciones cinéticas; iii) separación por puntos de ebullición y iv) volatilización selectiva de un analito respecto de otras especies presentes en la muestra [2].

8.3. TÉCNICAS ACOPLADAS (“HYPHENATED TECHNIQUES”) PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO

8.3.1. Generalidades

Antes de llevar a cabo análisis de especiación de arsénico, el químico analítico debe tener claro qué especies se desea medir; cómo se debe muestrear el material a ensayar y aislar las especies sin producir cambios en su composición, si se pueden detectar las pequeñas cantidades de las especies aisladas, que muchas veces están a nivel de ultratrazas, y si se dispone de materiales de referencia para llevar a cabo las calibraciones para cada especie y para poder realizar una adecuada validación de las metodologías desarrolladas.

A continuación, es necesario planear estrategias de análisis que incluyan la evaluación de la estabilidad de las especies a evaluar, que son dependientes de la matriz y las condiciones fisicoquímicas tales como temperatura, humedad, luz ultravioleta o materia orgánica presente. Seguidamente, se deben aislar y purificar las especies, evaluar las posibilidades de transformación que pudieran haber sufrido a través del procedimiento, y sus características e interacciones. Los procedimientos deben incluir metodologías de cuantificación y calibración apropiadas. Asimismo, mientras que la concentración de arsénico total se mantiene en el tiempo, la de sus especies puede ser dinámica y variar con los cambios en su entorno, debidos principalmente a variaciones de pH, concentración de ligandos con los que podría formar complejos, presencia de concomitantes con los que interactúan y, en el caso de matrices biológicas, podrían influir el estado fisiológico de las células y el estado de salud del individuo en estudio. Es por eso que deben considerarse tanto la estabilidad cinética como termodinámica de las especies elementales en su medio ambiente.

8.3.2. Muestreo para análisis de especiación

El requerimiento clave para la especiación es la preservación de la información de las especies presentes en la muestra durante todo el proceso analítico. Esto se logra a través de dos estrategias principales: i) se debe mantener la especie de interés sin cambios durante todos los procesos críticos del ensayo y ii) las especies deben ser cuantitativamente transformadas en estadios tempranos del ensayo en derivados adecuados para los métodos posteriores de separación, acumulación y cuantificación. La estabilidad química y la volatilidad de los analitos es de gran importancia en los procesos de muestreo.

Como los análisis de especiación en muestras ambientales son a niveles de trazas y ultratrazas, se debe ser muy cuidadoso con la pérdida de analito y la posible contaminación externa a lo largo de todo el proceso de muestreo hasta llegar a la determinación analítica. Todos los materiales que están en contacto con las muestras deben ser controlados. Se deben evitar herramientas de acero inoxidable, los elementos de muestreo deben ser lavados con HNO₃ 10%, enjuagados varias veces con agua destilada y finalmente con agua desionizada. El uso de guantes y el seguimiento de condiciones de seguridad deben ser incluidos en los protocolos de muestreo.

Para el caso de **muestreo de aguas**, las técnicas varían con las propiedades de las especies a determinar y el tipo de agua de interés (agua subterránea, agua de bebida, de río o de lago, agua de mar, agua mineral, efluentes, lixiviados, aguas intersticiales de suelos o sedimentos, lluvias, nieve, entre otras). También tiene influencia la ubicación (mar abierto, ciudad, zona industrial, caserío, entre otras) y la profundidad de muestreo requerida bajo la superficie del recurso. En la toma de muestras de aguas naturales es de gran importancia su representatividad para los objetivos del estudio ya que no son químicamente homogéneas como las aguas empleadas en los laboratorios analíticos

Se debe ser extremadamente cuidadoso para evitar contaminación con el aire que rodea a la muestra y, además, debe evitarse la formación de biopelículas que pueden actuar como sitios de reacción para biometilación sobre superficies de los elementos de muestreo.

El muestreo de aguas para análisis de especiación debe tomar en cuenta todas las precauciones recomendadas para el análisis de trazas en esas matrices [3]. Esto implica desde evitar cualquier contaminación a partir del recipiente de muestreo hasta la selección de materiales adecuados para el muestreo y el almacenamiento. Debe evitarse cualquier contacto con metales, incluyendo los de los sistemas de bombeo y las tuberías. Los envases de policarbonato y polietileno son recomendables para la conservación de las especies de arsénico.

Muchas operaciones rutinarias realizadas en muestreos de aguas no pueden ser aplicadas a casos en que se quiera especiar. Por un lado, la filtración por membrana de celulosa o policarbonato, usualmente de 0,45 µm, o la centrifugación son necesarias para remover bacterias y otros constituyentes reactivos no disueltos en la muestra de agua. Por otro lado, tales técnicas de separación deben ser controladas, no sólo como fuentes de contaminación sino con respecto a su influencia sobre la distribución de las especies originales entre la fase solución y la interfaz entre la materia particulada y el agua, ya que estos últimos son sitios prominentes de reacción y adsorción para muchas especies de interés. La acidificación de muestras de aguas, frecuentemente recomendada, no sólo estabiliza los iones metálicos en solución reduciendo su adsorción sobre los envases y la actividad microbiana, sino que también modifica el equilibrio ácido-base y los equilibrios redox y de formación de complejos, lo que puede llegar a impedir la determinación de los patrones de especiación. La validación de técnicas de muestreo con respecto a operaciones que mantengan las especies, debe siempre realizarse haciendo referencia a las especies blanco (*target*) y no existen enfoques generales.

Para **muestreo de suelos y sedimentos**, el aspecto más crítico y difícil es lograr la representatividad de la muestra. Los especímenes ambientales son muy heterogéneos en su composición química, y debe realizarse un barrido extenso del área a muestrear para lograr llegar a conclusiones científicamente válidas. Deben colectarse porciones de muestras mayores debido a la heterogeneidad intrínseca de estas matrices, y utilizar para ello herramientas de tamaño y materiales adecuados tales como, titanio, plástico o cerámica [4].

Debe tenerse en cuenta que pueden presentarse problemas debido a variaciones en la concentración de oxígeno durante el muestreo, especialmente en el caso de sedimentos originalmente anóxicos. En la actualidad, la definición de composición de la muestra es difícil para propósitos de especiación, debido a que la interfaz entre partícula sólida y agua, biofilmes y agua de poro pueden ser sitios de reacción prominentes para la transformación de especies y porque es casi imposible preservar su estado original durante el proceso de muestreo. Se necesitan nuevos desarrollos ya sea para realizar especiación *in situ* o para procedimientos que mantengan las especies en el muestreo.

8.3.3. Procesamiento y almacenamiento de muestras para análisis de especiación

El **procesamiento de las muestras** medioambientales para el caso de sólidos implica la realización de operaciones físicas, entre ellas molido y secado, antes de cualquier pretratamiento analítico. La influencia de tales manipulaciones es muchas veces subestimada y, sin embargo, debe ser cuidadosamente controlada por el analista con respecto a la contaminación, pérdida o transformación del analito y las modificaciones relevantes de la matriz. Debe tenerse en cuenta que, durante el proceso de molienda, las muestras deberían ser refrigeradas, para evitar la transformación de especies e inclusive su pérdida. Las partes internas de los recipientes de los molinos deberían ser de politetrafluoroetileno (PTFE, comercialmente conocido como Teflón®) o preferentemente titanio, para evitar contaminaciones críticas. El proceso de secado podría llevar a cambios capaces de influenciar significativamente el análisis de especiación. El secado podría remover algo más que moléculas de agua de la muestra fresca y alterar la composición química general del material. Una de las mayores limitaciones del uso de materiales secos para determinar las especies es que los materiales húmedos tienen diferentes propiedades de extracción con respecto a los materiales secos. Por ejemplo, la extracción obtenida para especies arsenicales a partir de finos polvos de algas y mejillones usando metanol/agua decrece de 95,5% y 97% (muestras frescas) a 70 y 75,5%, respectivamente, cuando se extraen muestras secas [5]. Generalmente, se deben minimizar los pasos de manipulación de la muestra, se debe analizar de preferencia material fresco y sin tamizar y se debe evaluar el procesamiento de toda la muestra debido a su influencia sobre los cambios en la composición química original.

La preservación de la integridad química de la muestra debe ser el principal objetivo de su **almacenamiento**, lo que está relacionado con evitar la pérdida y la contaminación de las especies de interés, así como también cambios en la masa o en las propiedades relevantes de la matriz. La selección de métodos para el almacenamiento de muestras ambientales depende del tipo de material, del tiempo, del tamaño y número de muestras y de los recursos del laboratorio. Debe diseñarse teniendo en cuenta las especies blanco (*target*), siendo uno de los mayores problemas de la especiación de sólidos la ausencia de métodos analíticos para determinar especies directamente sobre sólidos.

Las transformaciones de las especies en frascos cerrados, por ejemplo, reacciones entre los constituyentes propios de las muestras y/o las superficies internas de los recipientes, pueden ser estimuladas por la temperatura, la luz, la actividad microbiana y las variaciones de pH (para líquidos). El parámetro clave de un correcto almacenamiento es la temperatura, que en la mayoría de los casos puede ser fácilmente controlada. El almacenamiento en congeladores a muy baja temperatura parece ser el enfoque más seguro para la conservación de muestras ambientales y analitos. Se debe seleccionar el material de los recipientes que serán expuestos a bajas temperaturas. Materiales poliméricos tales como el PTFE o polietileno, comúnmente usados, resisten temperaturas de congeladores

de laboratorio, pero para conservar a temperaturas menores que $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ se recomienda el uso de recipientes de vidrio.

Se debe seleccionar el tamaño del recipiente de forma de minimizar la relación superficie del contenedor a volumen de muestra y, por lo tanto, la posibilidad de pérdida o contaminación.

Las muestras deben guardarse a oscuras, o en recipientes color caramelo, tratando de minimizar el ingreso de oxígeno al medio de almacenamiento, para evitar reacciones de oxidación.

Las muestras líquidas se conservan comúnmente a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, por un período limitado, pero las reacciones de intercambio y la actividad bacteriana o la adsorción/desorción sobre las paredes de los recipientes, puede aún ser significativa.

Debe evitarse la acidificación para disminuir la adsorción de especies sobre las paredes de los recipientes, debido a la dependencia de los equilibrios de muchas especies en solución con el pH. Las especies organometálicas podrían descomponerse bajo influencia de la luz, los microorganismos o partículas suspendidas.

Para suelos y sedimentos, las técnicas de preparación para almacenamiento que se aplican comúnmente en análisis de trazas, tales como enfriamiento a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, almacenamiento en congeladores, o con nitrógeno líquido, no pueden asegurar la preservación de especies químicas.

En lo que se refiere a las precauciones específicas para el almacenamiento de las muestras y asegurar la estabilidad para arsénico, se puede mencionar que se han propuesto varios ácidos para la estabilización de arsénico en agua, pero esto debe ser evitado en el análisis de especiación. Una comparación entre el almacenamiento de soluciones a temperatura ambiente y a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ reveló que las soluciones de especies orgánicas arsenicales eran estables a largo plazo, mientras que las soluciones inorgánicas eran estables solamente durante el almacenamiento refrigerado [6]. También se demostró que soluciones puras de As(III), As(V), MMA, DMA, arsenobetaína y arsenocolina eran estables por casi un año si eran guardadas en la oscuridad y si los valores de pH estaban correctamente ajustados [7]. No se observó degradación aunque la temperatura aumentara a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sin embargo, se observaba degradación si se preparaban mezclas de las especies arsenicales, con y sin sales inorgánicas. Otro estudio, realizado con una mezcla de especies arsenicales mostró reacciones de oxidación y de metilación [8]. Después de 4 meses de almacenamiento a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en presencia de luz, todo el arsenito fue convertido en arseniato. Una solución idéntica conservada en la oscuridad a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ mostró sólo una ligera transformación del arsénico(III) (debido a baja actividad microbiana). Experimentos similares con mezclas de arsénico(V), DMA y arsenocolina, conservados a 20 y $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, mostraron formación de arsénico(III) después de 2 meses. Cuando la mezcla fue conservada a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ no se observaron cambios en las especies.

8.3.4. Técnicas de preparación de muestras para estudios de especiación elemental

Las técnicas acopladas basadas en la combinación de técnicas separativas con espectrometría atómica se han convertido en la metodología de preferencia en el análisis de especiación de arsénico por su capacidad para la discriminación de las diferentes formas en que puede estar presente el elemento. Estas técnicas presentan usualmente un extraordinario desempeño para soluciones de estándares, pero habitualmente fallan cuando se aplican a muestras reales. Un análisis de especiación de arsénico exitoso en muestras ambientales y biológicas depende de manera crítica de la preparación de la muestra, cuyo objetivo fundamental es aislar las especies (analitos) de la matriz, convertirlas en especies

“cromatografiables” y preconcentrarlas para poder alcanzar los límites de detección de las técnicas cromatográficas.

Los métodos de preparación de muestras por química húmeda, prácticamente dejados de lado en análisis de elementos traza totales con el advenimiento del ICP-OES y del ICP-MS, tienen ahora un rol singular en el análisis de especiación. Más aún, las bajas concentraciones de los analitos (arsénico y sus especies) involucradas (por debajo de los $0,1 \mu\text{g kg}^{-1}$ ó $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$), la fragilidad de los compuestos del arsénico, la necesidad de la preservación de la fracción organometálica a través de todo el proceso analítico y los estrictos requerimientos impuestos por los sistemas acoplados en lo referente a volumen de muestra, polaridad y aceptación de la matriz por los equipos, hacen de la preparación de muestra un punto esencial en el análisis de especiación.

El procedimiento para preparación de la muestra depende de la técnica analítica a utilizar y el tipo de muestra a ser analizada. La polaridad (y también la volatilidad) del analito determina la técnica cromatográfica a elegir para la separación de las especies previamente a su detección. La técnica separativa, a su vez, impone requerimientos para la solución del analito resultante del proceso de preparación de la muestra. Las técnicas que incluyen cromatografía gaseosa (GC) requieren volúmenes de $1 \mu\text{L}$ de solventes no polares, libres de partículas suspendidas. Para el caso de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la técnica más ampliamente utilizada para la especiación de arsénico, se requerirán soluciones acuosas de especies termodinámicamente estables y cinéticamente inertes (complejos metálicos y organometálicos) libres de partículas suspendidas. En términos de analitos, se pueden distinguir tres áreas mayores: especiación de formas redox, especiación de organometálicos (conteniendo enlaces carbono-metal o carbono-metaloide) y especiación de complejos metálicos y organometálicos. Para el caso específico del arsénico, interesan los equilibrios redox As(III)/As(V) y el caso de las especies organometaloides naturales, como los organoarsenicales, los arsenozúcares y los arsenolípidos.

El procedimiento de preparación de muestras para análisis de especiación usualmente requiere de los siguientes pasos:

- Filtración: se usa para separar partículas en gases y muestras acuosas. Usualmente se utiliza un filtro de $0,45 \mu\text{m}$, pero cuando se trabaja con HPLC es necesario usar un filtro de $0,2 \mu\text{m}$.

- Solubilización: se aplica para llevar el material biológico a solución. Se puede lograr por hidrólisis alcalina, ácida o enzimática. Es necesario remarcar que después de la solubilización, se obtiene una solución acuosa de las especies, pero aún no se ha eliminado la matriz.

- Lixiviado o extracción sólido-líquido: se aplica para extraer las especies del analito de muestras sólidas (suelo, sedimento o tejidos biológicos). La lixiviación es el método más popular para la especiación de complejos metálicos ya que los agentes de extracción están a pH neutro. La lixiviación es también el método preferido para el análisis de muestras de suelos y sedimentos que no pueden ser solubilizadas sin destrucción de los analitos.

- Preconcentración: es necesaria para incrementar la concentración de las especies analizadas en la solución introducida en la columna cromatográfica con respecto a la concentración en la que están presentes en la muestra analizada original. Las técnicas utilizadas incluyen criofocalización (una técnica de desorción térmica, que se utiliza combinada con los equipos de cromatografía gaseosa), extracción gas-sólido (*trapping*, para analitos que ya están en fase gaseosa), microextracción en fase sólida (*SPME* para analitos en la fase líquida o gaseosa) y extracción líquido-sólido (*sorption* para analitos

en aguas). La preconcentración puede lograrse por extracción con solventes y por evaporación del lixiviado o extracto.

- Limpieza (*clean up*): es la remoción de los componentes de la matriz (grasas, proteínas, hidrocarburos de alto punto de ebullición) que, de ser cointroducidos en una columna cromatográfica, pueden llevar a la destrucción de la columna o a la degradación de sus propiedades separativas. La limpieza se realiza generalmente por separación cromatográfica de baja resolución previa, con un mecanismo diferente al empleado para la separación analítica (por ejemplo, pasando las especies polares a través de una columna de C_{18} para luego ser separarlas por intercambio aniónico).

- Derivatización: es el proceso de conversión controlada de las especies originalmente presentes en una muestra en formas que proporcionen un rendimiento cromatográfico mejorado o que conlleven una mejora en los coeficientes de separación. Las derivatizaciones más empleadas son las realizadas sobre especies iónicas o altamente polares llevándolas a especies no polares de forma que puedan ser separadas por GC, por ejemplo una "derivatización Grignard" (que se lleva a cabo utilizando compuestos organometálicos con la fórmula general $R-Mg-X$, donde R es un radical orgánico, alquílico o arílico, y X un haluro). Para el caso de la separación de arsénico por HPLC, la forma más eficiente para mejorar el rendimiento cromatográfico es la formación de hidruros.

Es esencial que todos estos pasos sean llevados a cabo con máxima eficiencia (cuantitativa) y que las especies originales no sean degradadas.

8.3.5. Métodos separativos

Las técnicas separativas son el componente clave del análisis elemental de especiación. Existen, como ya se comentó, muchos detectores que pueden dar rápida información sobre la composición elemental total, pero la determinación de las distintas especies en que ese elemento se encuentre presente solamente se puede llevar a cabo cuando se acopla una técnica separativa con el detector específico. Existen varias técnicas de separación para especiar arsénico, incluyendo cromatografía gaseosa (GC), cromatografía líquida (LC, HPLC), electroforesis capilar (CE), cromatografía de fluidos supercríticos (*supercritical fluid chromatography*, SFC); sin embargo, la cromatografía líquida de alta resolución se ha convertido en una de las más empleadas para realizar esta tarea.

8.3.5.1. Cromatografía líquida

Las separaciones por cromatografía líquida (HPLC) se realizan introduciendo una muestra en una columna cromatográfica rellena con una fase estacionaria sólida, mientras que una fase líquida móvil circula continuamente, por bombeo, a través de la columna. Las fases estacionarias están compuestas generalmente por sílice químicamente modificada o polímeros. Las especies arsenicales presentes en la muestra interactúan tanto con la fase estacionaria como con la fase móvil en su paso a través de la columna; el grado en que cada uno de los analitos interactúe con esas fases determinará el tiempo de residencia de cada analito en la columna. De esta manera, la separación se logra cuando cada uno de los analitos, que tiene un grado de interacción diferente con las fases, salga de la columna a tiempos también diferentes capaces de ser detectados individualmente por el equipo.

La cromatografía líquida de alta resolución presenta un número de ventajas que la convierten en una herramienta única para el análisis de especiación. Esta técnica, a diferencia de la cromatografía gaseosa, posee la capacidad de separar compuestos no volátiles y también aquellos que se descomponen a elevadas temperaturas. Es extremadamente

versátil ya que tanto la fase estacionaria como la fase móvil pueden modificarse, e inclusive pueden agregarse aditivos para lograr una separación efectiva. Existe, por otra parte, una gran variedad de fases estacionarias disponibles comercialmente. Además, puede acoplarse de manera simple a detectores específicos como los mencionados en capítulos anteriores de este libro, como espectrómetros de absorción y fluorescencia atómica acoplados a generación de hidruros (HG-AAS y HG-AFS), espectrómetros de plasma inductivo de argón de emisión y acoplados a detectores de masas, asociados o no a generación de hidruros (ICP-OES, HG- ICP-OES y ICP-MS, HG- ICP-MS) y otros.

Los tamaños de partículas de las fases estacionarias típicas de las columnas comerciales usadas en HPLC son de entre 3 y 5 μm . La fase móvil se bombea a muy altas presiones a través de la fase estacionaria y los distintos tipos de separaciones por HPLC se subdividen de acuerdo a los tipos de fases estacionarias que se utilicen.

Para llevar a cabo una adecuada separación cromatográfica de las especies arsenicales, se deben ajustar una serie de parámetros y variables. Es necesario conocer las estructuras de esos analitos ya que las separaciones de las especies entre la fase estacionaria y la fase móvil están basadas en interacciones dipolo-dipolo, interacciones electrostáticas y fuerzas de dispersión. La selección de la fase móvil a utilizar está íntimamente relacionada con las características de los analitos a separar. En el caso del arsénico, en las matrices de interés de este trabajo (aguas y suelos) en las cuales el metaloide está presente en forma de especies aniónicas, éstas deberían ser separadas usando una columna con una fase estacionaria de intercambio aniónico. Asimismo, la naturaleza de las especies a ser separadas podría ser modificada antes de la separación mediante una derivatización para facilitar la separación o detección.

Asimismo, la fase móvil constituye otro factor crítico al optimizar una separación, y para el caso del arsénico consiste generalmente en un solvente o mezcla de ellos. Generalmente, se trata de soluciones acuosas a un dado pH, tales como soluciones tampón, en las que las especies sean solubles. El control del pH es esencial para obtener una separación efectiva de las especies. La composición de la fase móvil puede mantenerse constante a lo largo de toda la separación (separación isocrática) o usar elución con gradientes, variando la composición de la fase móvil, con lo que logran disminuirse los tiempos de corrida.

Otro punto a tener en cuenta es el caudal de la fase móvil, ya que aumentándolo pueden disminuirse los tiempos de corrida, pero esto puede ser en detrimento de la eficiencia de la separación y además ocasionar la pérdida de la correlación entre los volúmenes aportados por el sistema cromatográfico y los aceptados por el sistema al que está asociado el detector específico.

La temperatura puede influir en las separaciones causando variaciones en los tiempos de retención de las especies arsenicales, por lo que es conveniente mantenerla controlada en un compartimiento que se encuentre a temperatura constante, como es el caso del “horno” para las columnas cromatográficas, del que disponen muchos de los equipos comerciales disponibles en el mercado.

Finalmente, es conveniente hacer hincapié en el elemento fundamental para la separación, “la columna cromatográfica”, que como comentamos más arriba, es lo que define el tipo de cromatografía. Para la separación de especies arsenicales, que frecuentemente se encuentran en formas ionizadas, se utiliza comúnmente la cromatografía de intercambio iónico, indicada para separar átomos libres y especies fácilmente ionizables [9]. Las fases estacionarias típicas consisten en grupos funcionales como grupos amonio cuaternarios o grupos sulfonato unidos a un sustrato del tipo de polímeros estireno-

divinilbenceno o sílice. La cromatografía de intercambio iónico se divide en aniónica y catiónica, dependiendo de los grupos funcionales presentes en la fase estacionaria, siendo la primera de ellas la elegida para la separación de especies arsenicales, debido a la forma en que se encuentran en solución. Los sitios iónicos en la fase estacionaria tienen la carga opuesta a los analitos que se van a separar. Los contraiones de la fase móvil (generalmente soluciones acuosas de sales inorgánicas) mantienen la neutralidad eléctrica dentro de la columna cromatográfica, y las especies con carga opuesta a la del grupo funcional interactúan electrostáticamente con la fase estacionaria. El tiempo de retención de una especie dada se incrementa con el aumento de la fuerza electrostática [1]. También está descrito en la bibliografía el uso de columnas de intercambio catiónico y aniónico combinadas para la determinación de seis especies arsenicales catiónicas y aniónicas, usando elución por gradiente y disminuyendo el pH a lo largo de la corrida. Generalmente, se usan tres fases móviles diferentes, ácido nítrico diluido, agua y solución reguladora de carbonato [10].

Debe mencionarse que la cromatografía iónica se usa también para las fases de limpieza y preconcentración de la muestra, previas a la separación mediante HPLC.

La principal ventaja de usar reguladores acuosos es que, de esta forma, esta técnica se vuelve compatible con las técnicas que emplean detectores específicos como HG-AAS, HG-AFS, ICP-OES, HG-ICP-OES, ICP-MS, HG-ICP-MS. Además, estos sistemas pueden acoplarse a detectores específicos, como los mencionados más arriba, ya que la muestra es constantemente aspirada a caudales comparables a los utilizados en análisis cromatográficos ($0,4$ a $2,5$ mL min⁻¹) a través de un tubo (usualmente corto) de PTFE o algún material equivalente que una la salida de la columna con los distintos sistemas de introducción de muestras (nebulizadores, sistemas generadores de hidruros). El uso de generación de hidruros en el análisis de especies arsenicales no sólo contribuye a una notable mejora en la sensibilidad y a la reducción de interferencias, al separar de la muestra las especies arsenicales, sino que, al introducirse a las descargas una especie gaseosa, se maximiza la eficiencia de introducción de la muestra, con el consecuente incremento en la señal obtenida. Sin embargo, no todas las especies forman hidruros volátiles. Por ejemplo, el arsenito forma rápidamente un hidruro volátil, pero la arsenobetaina y los arsenoazúcares, especies importantes desde el punto de vista biológico, no lo hacen. Por ese motivo, las especies separadas cromatográficamente deben ser descompuestas en línea antes de la generación de hidruros y, una vez que están en forma de arsenito, los hidruros volátiles formados se detectan por cualquiera de las técnicas espectroscópicas mencionadas.

8.3.5.2. Cromatografía gaseosa

Las condiciones básicas que gobiernan la adecuación de la cromatografía gaseosa (GC) para la separación y detección de un compuesto son su volatilidad y estabilidad térmica. En el campo de la especiación, muy pocos compuestos cumplen estos requerimientos directamente y el analista debe acudir al empleo de reacciones químicas para transformar las especies no volátiles (generalmente iónicas) en compuestos volátiles térmicamente estables. Estas reacciones son conocidas como reacciones de derivatización y, para el caso del arsénico, pueden incluir la generación de hidruros. Se han desarrollado muchas reacciones de derivatización para cromatografía gaseosa (GC), lo que ha ampliado el campo de esta técnica para el análisis de una amplia variedad de especies [1].

El acoplamiento de estos equipos a los de ICP-OES e ICP-MS es tan simple como el que hay que llevar a cabo en el caso de HPLC. Sin embargo, los trabajos descritos en la

bibliografía para el análisis de especies de arsénico con este tipo de acoplamientos son sólo de tipo académico.

8.3.6. Detectores específicos

8.3.6.1. *Espectrometría de absorción atómica, espectrometría de fluorescencia atómica y espectrometría de emisión con fuente de plasma inductivo*

El principal desafío analítico para el análisis de las especies de arsénico a nivel de trazas está relacionado con las bajas concentraciones en las que están presentes y los requerimientos para la identificación de las formas químicas en las que se encuentre el metaloide. Ambos requerimientos están lejos de ser alcanzarlos satisfactoriamente por la mayoría de la instrumentación comercial disponible para el análisis orgánico e inorgánico.

El análisis elemental ha apuntado tradicionalmente a la completa recuperación del metaloide y a la alta sensibilidad, con el propósito de medir la cantidad total del elemento contenido en una muestra. Las técnicas de absorción, fluorescencia y emisión atómicas (AAS, AFS, ICP-OES) y el plasma inductivo con detector de masas (ICP-MS) se han desarrollado y optimizado para alcanzar estas metas.

La metodología desarrollada para la determinación elemental apunta a la disolución completa de la matriz para optimizar la atomización y la cuantificación. Con estas técnicas, sin embargo, se ha conseguido poca información con respecto a las formas y estructuras de los compuestos en los cuales se encuentre el elemento.

Además de requerir la detección de cantidades muy bajas del elemento (trazas), las mediciones deben proporcionar información acerca de las formas o estructuras químicas en las que está presente. Desde este punto de vista, podemos inmediatamente apreciar las dificultades técnicas relacionadas con la especiación elemental. A causa de su baja sensibilidad, muchas técnicas populares (UV, IR, MS) que han sido extensa y exitosamente usadas para la identificación de formas y estructuras en análisis orgánico, no son usualmente adecuadas para la especiación elemental. Las herramientas más poderosas con alta sensibilidad para la mayoría de los metales fallan al momento de proporcionar información acerca de las formas en las que el elemento se encuentra.

En los laboratorios, este problema se ha solucionado combinando varias técnicas analíticas. Las combinaciones más exitosas resultan del acoplamiento de técnicas separativas y detectores selectivos a elementos. En general, los límites de detección de estos sistemas acoplados son fuertemente dependientes de los detectores seleccionados, aunque los límites de detección son inferiores a las de los detectores atómicos espectrométricos solos. Esto puede deberse a los pequeños volúmenes de muestra que deben ser introducidos en los sistemas cromatográficos y al ensanchamiento de los picos que ocurre durante la separación. Otra razón puede deberse a que los bajos caudales de muestra necesitan mayor compatibilidad con los caudales de la cromatografía líquida.

Las técnicas de detección selectivas a elementos generalmente usadas para propósitos de especiación incluyen espectrometrías de absorción atómica (AAS), emisión atómica (ICP-OES), fluorescencia atómica (AFS), plasma inductivo con detección de masas (ICP-MS). La Figura 8.1 muestra los equipos correspondientes.

En comparación con la espectroscopía de emisión atómica y el plasma con detector de masas, la absorción atómica y la fluorescencia atómica son los métodos de detección más empleados por su adecuada sensibilidad, su versatilidad y su bajo costo. Estas técnicas han sido exitosamente acopladas a cromatógrafos líquidos y gaseosos en muchos laboratorios. Como el eluato proveniente de cromatografía líquida y gaseosa puede ser

fácilmente introducido en la llama, la interfase entre la cromatografía y la absorción atómica o la fluorescencia atómica es muy simple. Sin embargo, la absorción atómica no puede proporcionar la sensibilidad necesaria para la especiación en la mayor parte de los casos.

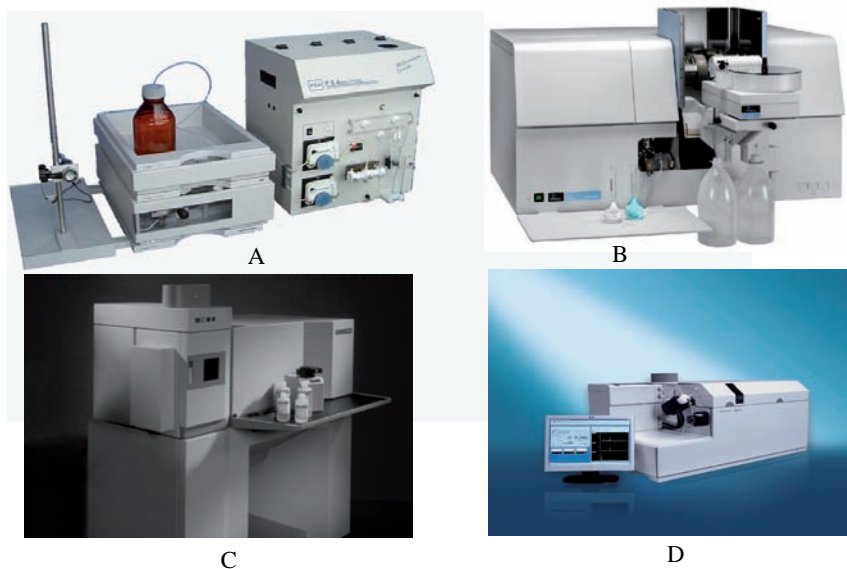


Figura 8.1. (A) Espectrómetro de fluorescencia atómica; (B) espectrómetro de absorción atómica; (C) espectrómetro de emisión atómica mediante plasma inductivo; (D) espectrómetro de plasma inductivo con detector de masas.

La absorción atómica con generación de hidruros y la fluorescencia atómica acoplada pueden usar una simple bomba isocrática de HPLC, asociada a una válvula de inyección manual y un gabinete para los solventes, en conjunción con una columna de intercambio aniónico fuerte (PSA C1, Hamilton PRP-X-100) para separar las cuatro especies. Para el caso HG-AFS se puede utilizar el equipo PSA10.055 Millenium Excalibur acoplándolo a una columna de intercambio aniónico fuerte o a un sistema de separación C_{18} de par iónico. En lugar de emplear el equipo completo de HPLC para la especiación de especies arsenicales mayoritarias, es decir, As(III), DMA, MMA y As(V), es frecuente el uso de una bomba asociada con un inyector manual con el que se realizan las inyecciones en la columna. Para la determinación de especies no reducibles, tales como arsenobetaína, arsenocolina, óxido de trimetilarsina y arsenoazúcares, se utiliza el sistema de oxidación PSA 10.570 UV (Figura 8.2).

Esta conformación instrumental se aplica para el análisis de aguas, bebidas, orina y cualquier matriz que pueda ser puesta en solución adecuadamente. Los límites de detección son del orden de $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$, con una excelente precisión.

Otra combinación posible se basa en el acoplamiento de un equipo de HG-AAS a un GC no comercial. El sistema incluye una trampa criogénica (columna cromatográfica) en la que se introducen los hidruros de las especies presentes en una dada muestra; éstos se separan a su paso por la columna cromatográfica y, al retirar repentinamente la columna del baño criogénico, se logra la separación de las especies, que destilan a distintas temperaturas (inferiores o iguales a la temperatura ambiente), pasando por un conector a la celda de calentamiento (inserta en el bloque térmico o en la llama) del equipo de AAS.

Allí las especies se atomizan y son luego detectadas secuencialmente a medida que se liberan de la columna cromatográfica [11]. En los últimos años, esta técnica ha tomado auge y es la preferida para la determinación de especies arsenicales en niveles de las ultratrazas, sobre todo para el caso de muestras biológicas [12].

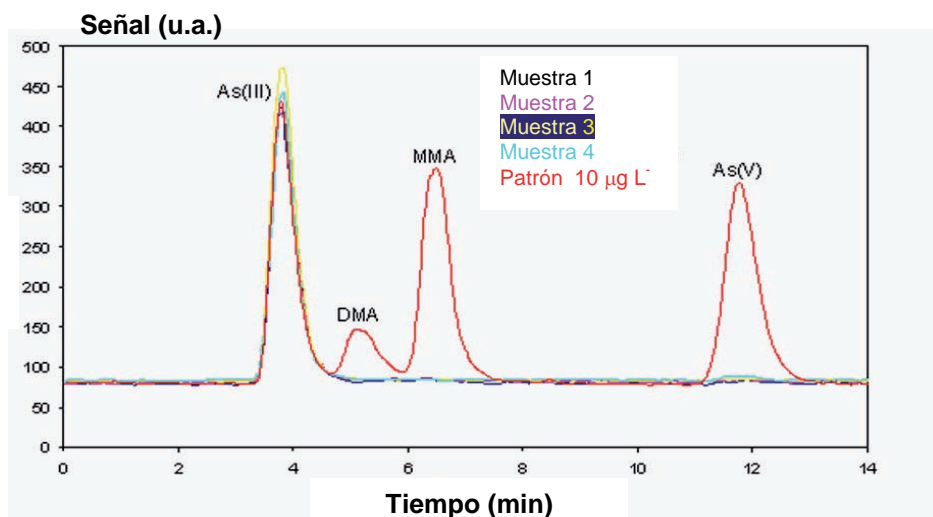


Figura 8.2. Cromatograma de inyecciones de cuatro muestras de aguas subterráneas superpuestas con un estándar de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada una de las especies arsenicales ensayadas (As(III), As(V), DMA, MMA).

El mayor mérito de estas técnicas acopladas es su alta sensibilidad. Adicionalmente, el efecto matriz puede ser removido efectivamente antes de que la muestra entre en el detector de AAS o de AFS. En comparación con AAS y AFS, la fuente de plasma ofrece las ventajas de la operación multielemental. Es muy fácil de acoplar a la cromatografía y acepta el flujo continuo proveniente del eluato de cromatografía líquida. La desventajas más importantes están asociadas con la sensibilidad del plasma a solventes orgánicos y la ineficiencia del sistema de nebulización. La reducida tolerancia de la fuente de plasma a la mayor parte de las fases líquidas orgánicas limita la aplicación de esta técnica a las mediciones de especiación de analitos a nivel de traza.

Para una mayor información sobre estas técnicas y los principios de operación y funcionamiento, consultar los Capítulos 4 y 6 para AAS e ICP-OES, respectivamente.

8.3.6.2. Plasma inductivo con detección de masas

El plasma inductivo acoplado a detección por masas (ICP-MS) es una técnica muy versátil y quizás la más eficiente para determinación elemental a nivel de trazas y ultratrazas. Se distingue por los espectros relativamente simples, y el bajo nivel de interferencias, lo que facilita su ya poderosa capacidad de detección multielemental. Los ámbitos lineales dinámicos promedio son realmente amplios, alcanzando niveles de 10^5 y hasta 10^6 , y los límites de detección son extremadamente bajos. Por lo descrito, queda claro que el ICP-MS no puede usarse para especiación elemental, ya que todas las moléculas introducidas en el entorno de alta temperatura de la fuente de iones (ICP) se rompen en los fragmentos y átomos constituyentes, que son posteriormente ionizados. Sin embargo, si las diferentes especies de interés son separadas una de otra antes de su introducción en el plasma, el ICP-

MS puede ser usado como un detector multielemental específico de altísima sensibilidad, quizás el mejor que se conozca en la actualidad.

El funcionamiento y los parámetros operativos del ICP-MS han sido descritos en el Capítulo 7, por lo que no serán discutidos en este punto.

Sin embargo, es importante comentar los parámetros de mérito asociados a su operación que repercuten en el análisis de especiación. Al respecto, se puede decir que los límites de detección (LD) varían con respecto al equipo que se esté usando ya que están gobernados por el ruido de fondo y la sensibilidad, y también es función del elemento a evaluar, ya que los LD están regidos por el número másico, el potencial de ionización, y la abundancia isotópica del isótopo a monitorear. Cuando no están limitados por un potencial de ionización muy alto o un fondo incrementado por contaminación del blanco y/o elementos interferentes, se pueden obtener LD del orden de los ng L⁻¹ o menores; para los equipos provistos de sector magnético, los límites podrían disminuir hasta 1 pg L⁻¹. En estos casos, ya no es el poder de detección instrumental sino la pureza de los reactivos el factor limitante con respecto a los LD obtenidos. Adicionalmente a los amplios ámbitos lineales dinámicos ya comentados, esta técnica se caracteriza por tener desviaciones estándar relativas (%RSD) menores al 2%, y la precisión de las relaciones isotópicas es menor al 0,05%. A lo largo de los años, los equipos de ICP-MS se han ido perfeccionando; sin embargo, se sigue desaconsejando la introducción de soluciones con contenido de sólidos totales disueltos que excedan los 1-2 g L⁻¹. Finalmente, aunque se integren señales transitorias cortas, el monitoreo constante de unas 20 relaciones masa - carga es posible de llevar a cabo con la instrumentación que usa cuadrupolo y, en análisis de especiación, raramente se deben monitorear simultáneamente un número mayor de relaciones. No se debe dejar de mencionar, sin embargo, que los equipos de ICP-MS aún son caros, y deben ser instalados en recintos controlados y manejados por analistas altamente entrenados.

El acoplamiento del ICP-MS a un cromatógrafo líquido de alta presión (HPLC) es por demás simple, debido a que los caudales con los que operan ambos son semejantes y el caudal que ingresa al plasma es compatible con una nebulización neumática estable; además, el plasma trabaja a temperatura ambiente. El problema aparece al momento de introducir los efluentes del HPLC al ICP, ya que las fases móviles contienen, por lo general, solventes orgánicos y sales inorgánicas, en soluciones reguladoras, tal como se muestra en la Fig. 3.

En el caso de la especiación de arsénico, en la que se usa la cromatografía de intercambio aniónico, las concentraciones de las soluciones reguladoras son superiores a 0,1 M y pueden causar tanto supresión como incremento de la señal. Pueden, además, obstruir el nebulizador e inclusive dañar los conos del *skimmer*, lo que se puede minimizar desviando con una válvula el volumen de fase móvil introducida, con la consecuente disminución de la señal. Otro problema que puede presentarse en esta técnica acoplada es que la baja eficiencia de transporte de los analitos al plasma (5% o menor) obtenida con nebulizadores neumáticos disminuye la señal obtenida, pero es posible modificarla utilizando otros tipos de nebulizadores como los ultrasónicos, que incrementan la eficiencia de transporte del analito.

Por su parte, el acoplamiento de un ICP-MS a un cromatógrafo gaseoso (GC) ofrece un mayor poder de resolución y un 100% de eficiencia en la introducción de la muestra, permite que el plasma se mantenga estable, reduce las interferencias espectrales como resultado de que el plasma está seco y disminuye el deterioro de los conos y el *skimmer*. Sin embargo, estas aparentes ventajas se ven opacadas por el hecho de que este acoplamiento

(GC- ICP-MS) sólo puede usarse para la separación y detección de sustancias volátiles y térmicamente estables, o especies que como resultado de una derivatización, puedan formar ese tipo de compuestos. Además, se requiere que la transferencia que se usa para el acoplamiento GC- ICP se caliente a una temperatura tal, que impida la condensación de las especies que se han separado en el cromatógrafo y que se use un gas auxiliar (*make up*) para homologar los caudales de los efluentes del GC, que son del orden de 1 mL min⁻¹ y los requeridos por el ICP, que son de aproximadamente 1 L min⁻¹.

REFERENCIAS

1. Cornelis, R., Crews, H., Caruso, J., Heumann, K. (Eds.): *Handbook of Elemental Speciation. Techniques and Methodologies*. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, Reino Unido, 2003.
2. González, A., Cervera, M.L., Armenta, S., de la Guardia, M.: A review on non chromatographic methods for speciation analysis. *Anal Chim. Acta* 636 (2009), págs. 129-157.
3. Helmers, E. *Sampling of sea and fresh water for the analysis of trace elements. Sampling and Sample Preparation*. Ed. M. Stoeppler. Springer. Berlin, 1997, págs. 26-42.
4. del Castro, P., Breder, R. *Soils and soils solutions. Sampling and Sample Preparation*. Ed. M. Stoeppler. Springer. Berlin, 1997, págs. 43-56.
5. Emons, H.: Challenges for speciation analysis for the development of biological reference materials. *Fresenius J. Anal. Chem.* 370 (2001), págs. 115-119.
6. Jókai, Z., Hegoczki, J., Fodor, P.: Stability and Optimization of Extraction of Four Arsenic Species. *Microchemical J.* 59 (1998), págs. 117-124.
7. Lagarde, F., Asfari, Z., Leroy, M.J.F., Demesmay, C., Ollé, M., Lamotte, A., Leperchec, P., Maier, E.A.: Preparation of pure calibrants (arsenobetaine and arsenocholine) for arsenic speciation studies and certification of an arsenobetaine solution – CRM 626. *Fresenius J. Anal. Chem.* 363 (1999), págs. 12-17.
8. Demesmay, C., Ollé, M., Porthault, M.: Arsenic speciation by coupling high-performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Fresenius J. Anal. Chem.* 348 (1994), págs. 205-210.
9. Wang, J., Tomlinson, M. J. and Caruso, J. A.: Extraction of Trace Elements in Coal Fly Ash and Subsequent Speciation by High- Performance Liquid Chromatography with ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom.* 10 (1995), págs. 601-607.
10. Teräshade, P., Pantsar-Kallio, M., Manninen, P.K.G.: Simultaneous determination of arsenic species by ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 750 (1996), págs. 83-88.
11. Crecelius, E.A.: Modification of arsenic speciation using hydride generation. *Anal. Chem.* 50 (1978), págs. 826-827.
12. Hernández-Zavala, A., Matoušek, T., Drobná, Z., Paul, D., Walton, F., Adair, B. M., Dědina, J., Thomas, D.J., Stýblo, M.: Speciation analysis of arsenic in biological matrices by automated hydride generation-cryotrapping- atomic absorption spectrometry with multiple microflame quartz tube atomizer (multiatomizer). *J Anal At. Spectrom.* 23 (2008), págs. 342-351.

Capítulo 9

Espectrometría de fluorescencia de rayos X de energía dispersiva

LORENA CORNEJO Y JORGE ACARAPI

9.1. INTRODUCCIÓN

La espectrometría de fluorescencia de rayos X es una técnica espectroscópica de *emisión* que ha encontrado utilidad en muchos campos de las ciencias y la industria. Sus principales aplicaciones se relacionan directamente con la identificación y cuantificación elemental de distintos tipos de materiales [1-3]. La técnica se basa en la emisión de *radiación X característica*, con energías típicas en el rango de 1 a 60 keV. Esta emisión es resultado de la excitación, y posterior reordenamiento, de los electrones ubicados en los niveles de energía internos del átomo por una fuente de energía externa. Estas fuentes de energía externa pueden corresponder a electrones acelerados, partículas cargadas, haz de rayos X o luz sincrotrón. En la actualidad, este tipo de técnicas analíticas han tenido un renovado impulso, como resultado del creciente interés de la sociedad en incentivar el desarrollo y empleo de métodos de análisis que reduzcan o eliminen la generación de residuos potencialmente tóxicos para el ambiente. Las técnicas de análisis vía rayos X presentan la ventaja de prácticamente no generar desechos, resultando en una de las técnicas instrumentales más amigables con el ambiente [4,5].

9.2. EMISIÓN DE RAYOS X

Cuando la materia es bombardeada con partículas de alta energía, como electrones acelerados, rayos γ u otras radiaciones electromagnéticas, es posible arrancar electrones internos del átomo. De esta manera, si un fotón impacta a un electrón enlazado y la energía del fotón es mayor a la energía de enlace del electrón en su capa, entonces es posible para el electrón absorber la energía total del fotón. El fotón desaparece en este proceso y su energía es transferida al electrón, el cual es eyectado desde su capa. El fotón eyectado es llamado fotoelectrón, y la interacción se conoce como efecto fotoeléctrico. El fotoelectrón es emitido con una energía $E - \Phi$, donde E es la energía del fotón original y Φ es la energía de enlace del electrón en su capa. En la Figura 1 se describe este proceso, observándose la remoción de uno de los electrones K (Figura 1(a)). El término Φ corresponde a la energía de enlace de los electrones en la capa K, o sea Φ_K . El espacio vacante generado en la capa K representa una situación inestable (Figura 1(b)). Con el fin de contrarrestar esta inestabilidad, se transferirá un electrón desde una capa con una menor energía de enlace hacia la capa K, con el objetivo de llenar el espacio vacante.

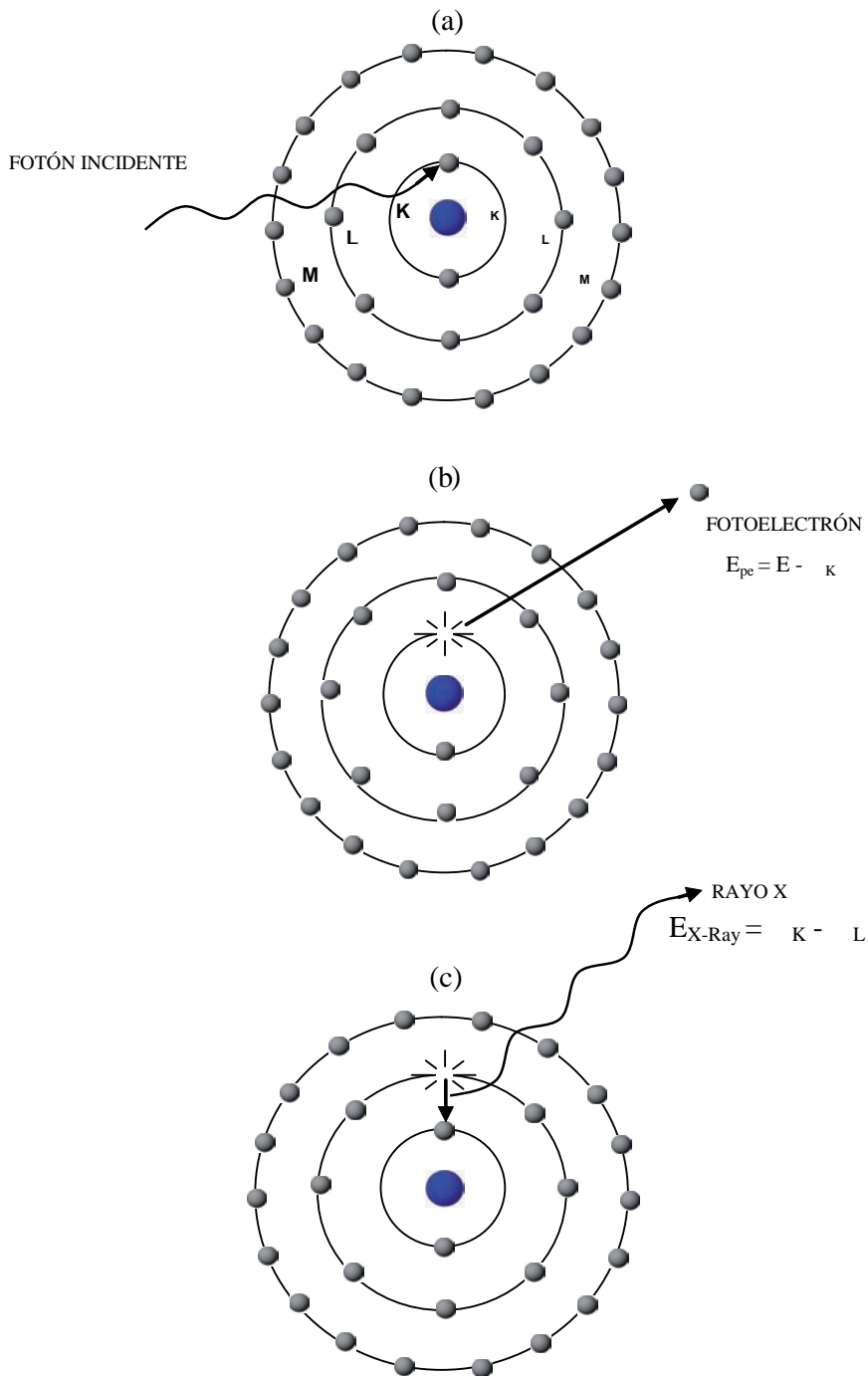


Figura 1. Generación de rayos X

Finalmente, la diferencia en las energías de enlace entre las dos capas puede ser disipada en la forma de un fotón de rayos X característico (Figura 1(c)). Por ejemplo, si

un electrón desde la capa L llena la vacante, la diferencia entre las energías de enlace, $\Phi_K - \Phi_L$, puede ser emitida como un fotón de rayo X K característico [6, 7].

9.3. FLUORESCENCIA DE RAYOS X

A la excitación producida por bombardeo de electrones se le denomina excitación primaria, y a la radiación así obtenida se le llama radiación X primaria. Los tubos de rayos X son fuentes de la radiación X primaria; la radiación X primaria se produce también en la microscopía electrónica, al ser irradiada una muestra por un haz de electrones, donde se utiliza para el análisis químico de la muestra [8].

Al proceso de excitación con otra radiación X se le denomina excitación secundaria, y la radiación X producida por excitación de otra radiación X se denomina radiación X secundaria o radiación de fluorescencia. Es la radiación X secundaria característica la que se utiliza para el análisis químico en los espectrómetros de fluorescencia de rayos X.

Al ser las energías de los distintos niveles electrónicos características para cada tipo de átomos, la radiación X emitida será característica para cada elemento, y, en principio, no dependerá de la sustancia química en la que se encuentre, ya que, en general, estas radiaciones están originadas por transiciones entre los niveles electrónicos internos, cuyas energías no se ven afectadas por el tipo de enlace existente.

El fenómeno de fluorescencia de rayos X se puede describir en dos etapas: a) excitación y b) emisión.

a) Excitación. Si se considera un sistema en su estado fundamental, es decir de menor energía, al aplicarse una energía de una magnitud suficiente, ésta puede ser absorbida por el sistema, pasando éste a un estado de mayor energía o estado excitado debido a la salida de electrones del átomo. A la excitación producida por rayos X que provienen del tubo de rayos X, se le llama radiación primaria o fotones de rayos X primarios.

b) Emisión. Los estados excitados son inestables, y el átomo tiende a volver a su estado fundamental, para lo cual se producen saltos de electrones desde los niveles más externos hacia los niveles más internos, para ocupar los huecos producidos. Este proceso produce desprendimiento de energía en forma de radiación de rayos X secundaria llamada fluorescencia de rayos X.

Las determinaciones cuantitativas en Fluorescencia de Rayos X (FRX) se basan en la medida de intensidades, las cuales son transformadas a concentraciones mediante el empleo de curvas de calibración.

Desde el punto de vista instrumental, un equipo de Fluorescencia de Rayos X consta de una fuente de excitación, generalmente un tubo de rayos X, que hace llegar a la muestra una banda de longitudes de onda compuesta por el espectro continuo y las radiaciones características del elemento del que se compone el tubo (Figura 2).

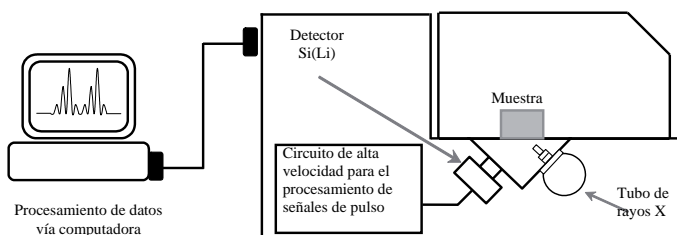
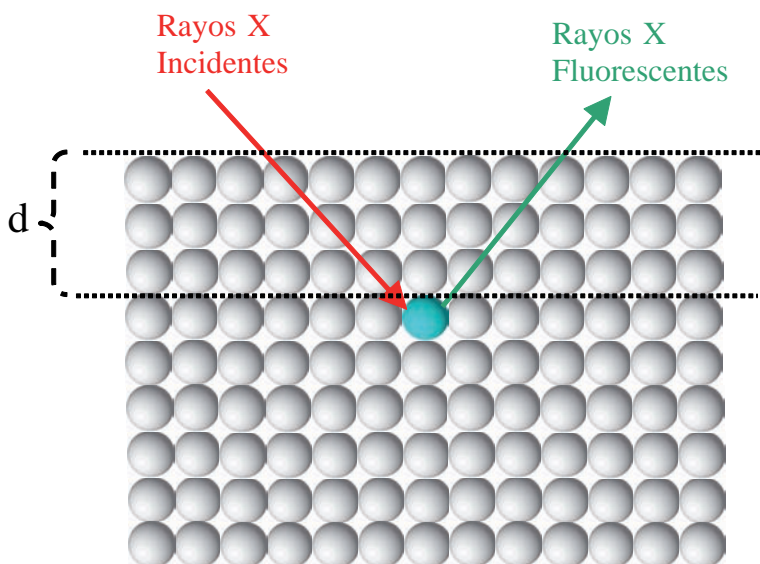


Figura 2. Configuración del Espectrómetro de Fluorescencia de Rayos X de Energía Dispersiva, EDX-900HS, Shimadzu [9].

Esta banda de longitudes de onda produce en la muestra una radiación de fluorescencia primaria, debido a la interacción de las radiaciones de excitación con los elementos que componen la muestra, emitiéndose un haz de rayos X que puede ser medido con un sistema de detección adecuado. En la muestra excitada por una radiación primaria, no sólo se producirá esta radiación de fluorescencia primaria. Cada elemento de la muestra será también excitado por las radiaciones de fluorescencia primarias de los restantes elementos, produciéndose una radiación de fluorescencia secundaria. Esta radiación secundaria está directamente relacionada con los llamados efectos de matriz (Figura 3a).

a)



b)

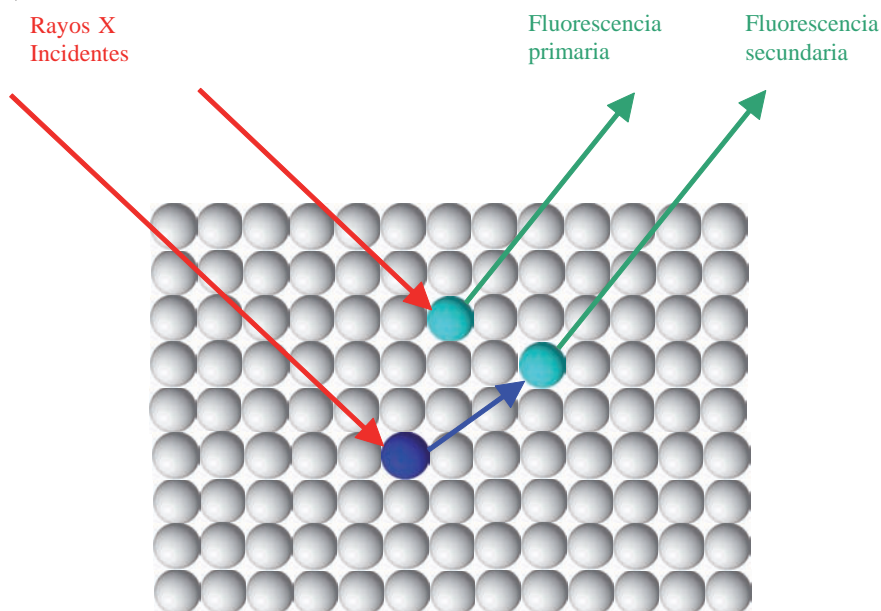


Figura 3. Fenómeno de fluorescencia de rayos X

9.4. SISTEMAS DE DETECCIÓN

Los rayos X pueden ser detectados por diversos procedimientos basados en sus propiedades fotoquímicas o ionizantes [10-12]. Existen tres tipos de detectores:

- a) Detectores de gas: basados en la ionización de un gas cuando actúan sobre él los fotones de rayos X. Normalmente empleado en los instrumentos de dispersión de longitudes de onda.
- b) Detectores de estado sólido o centelleo: se fundamentan en la propiedad que poseen los rayos X de producir destellos de luz visible bajo algunas condiciones. Se emplea en instrumentos de dispersión de longitudes de onda.
- c) Detectores de semiconductores: la ionización se produce por los fotones de rayos X al actuar sobre una fase sólida de semiconductores. El principal ejemplo corresponde al detector de Si(Li) empleado en los espectrómetros de dispersión de energía.

9.5. ANÁLISIS CUANTITATIVO: PRINCIPIOS Y MÉTODOS DE ANÁLISIS EN FLUORESCENCIA DE RAYOS X

La relación entre la intensidad de fluorescencia medida para un determinado elemento A y su concentración se puede expresar por:

$$C_A = K I_A M S \quad (9.1)$$

donde C_A y I_A son su concentración e intensidad de fluorescencia, respectivamente, K es una constante que depende de la geometría del espectrómetro y de las condiciones bajo las cuales éste trabaja (voltaje, corriente, detector, etc.), M es un factor que define los efectos interelementales que sufre el elemento A con los restantes elementos que componen la muestra (efecto de matriz) y S define la influencia del tamaño de partícula y de textura de la muestra en la intensidad de fluorescencia observada para el elemento A (efecto de tamaño de partícula).

9.5.1. Efectos de absorción y refuerzo

Cuando la intensidad de una línea analítica de un elemento depende de la presencia en la muestra de otros elementos, se puede producir un refuerzo o una atenuación de su intensidad, condición denominada como “efecto matriz”. Si la muestra está constituida por un solo tipo de elemento, la absorción que se produce dependerá de la radiación empleada y del tipo de elemento en la muestra. En el caso de que un elemento sea excitado por la radiación incidente y además por la radiación de fluorescencia de otros elementos presentes en la muestra, se producirá un refuerzo en la intensidad que dependerá de los tipos de átomos implicados y de sus concentraciones (Figura 3b). Cabe destacar que estos efectos de matriz son los que más problemas causan a la hora de determinar la concentración de un elemento, existiendo distintos métodos para evitarlos y corregirlos, ya que son sistemáticos, previsible y evaluables.

9.5.2. Métodos de análisis sin tener en cuenta el efecto de matriz

Consisten en obtener una buena linealidad disminuyendo el rango de concentración, es decir, efectuando el calibrado para pequeños intervalos de concentración y utilizando gran cantidad de patrones con una matriz similar a las muestras que se van a analizar. Como

es lógico, en tal caso no se efectúan correcciones por efectos de absorción-refuerzo, y se requiere de una molienda rigurosa de la muestra (tamaño final de partícula menor a 60 μm) para evitar los efectos de tamaño de partícula. Las curvas de calibrado obtenidas sólo son válidas para el análisis de muestras con matriz similar a la de los patrones que se han utilizado. Presenta la ventaja de ser un método rápido, sencillo y que requiere poco empleo del ordenador.

9.5.3. Otros métodos para minimizar efectos de matriz en los análisis por FRX

- a) Método de dilución
- b) Método del patrón interno
- c) Uso de la radiación dispersada como patrón interno (Compton).
- d) Correcciones matemáticas: parámetros fundamentales [13], por concentraciones [14], por intensidades [15].

9.6. TIPOS DE MUESTRAS Y SU TRATAMIENTO PARA ANÁLISIS POR FLUORESCENCIA DE RAYOS X

La técnica de fluorescencia de rayos X de energías dispersiva es adecuada para el análisis de muestras sólidas, como minerales, suelos o vegetales, molidas a tamaños de partícula adecuados para su análisis en forma de polvo o prensadas (estas últimas conocidas como *pastillas*) o luego de un pretratamiento que puede consistir en un proceso de fusión (para obtener *perlas*). Algunos aspectos adicionales relacionados al acondicionamiento de las muestras dependerán de los elementos a determinar, si éstos corresponden a componentes mayoritarios o a elementos trazas (Figura 4).

9.6.1. Análisis de elementos mayoritarios en suelos y minerales

Para el análisis de elementos mayoritarios, la técnica de preparación de muestras más aconsejable es la fusión. Los fundentes más utilizados son el tetraborato de litio ($\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$) y el bórax ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$). Esta fusión elimina completamente el efecto del tamaño de partícula, y en cuanto al efecto de matriz se pueden considerar los siguientes casos:

a) Fusión con muy alta dilución (50:1) y adición de un compuesto de alto coeficiente de absorción másico: en este caso, el efecto de matriz se elimina casi completamente; sin embargo, se observa una reducción de la sensibilidad. Como consecuencia de ello, los elementos ligeros como el Mg y el Na sólo pueden determinarse para concentraciones mayores al 5%.

b) Fusión con dilución media (5-10:1): esta alternativa es útil para el análisis de rocas silicatadas o carbonatadas. Se reduce el efecto de matriz, y la sensibilidad resultante es adecuada para la estimación de concentraciones mayores al 0,1% en la muestra.

c) Fusión de baja dilución (2:1): esta fusión presenta la ventaja de reducir poco la sensibilidad; sin embargo, aunque corrige el efecto matriz, requiere el empleo de patrones de composición similar al de las muestras que se van a analizar, con el fin de realizar correcciones por absorción.

En la práctica, las fusiones se realizan empleando equipos automáticos en las que la fusión se realiza en un crisol de platino-oro (95:5), sumado a agitación mecánica para obtener una adecuada homogenización de la mezcla fundente-muestra. La mezcla es luego depositada y enfriada sobre un platillo de Pt-Au-Rh (87:3:10).

9.6.2. Análisis de elementos trazas en suelos y minerales

Para el análisis de elementos traza, es decir elementos en concentraciones del orden de los mg kg^{-1} , el procedimiento de acondicionamiento más adecuado para la muestra es la obtención de una *pastilla (pressed pellets)*. Esta pastilla se prepara sometiendo la muestra a una molienda fina, que resulte en tamaños de partícula final inferiores a $60 \mu\text{m}$, y efectuando posteriormente un prensado del polvo obtenido. Adicionalmente, se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones para asegurar buenos resultados en la etapa de lectura por FRX:

a) En el caso de muestras sólidas y una vez terminada la molienda, éstas deben ser sometidas a un proceso de secado. El tiempo empleado en este proceso será el necesario para llegar a la condición de secado denominada *peso constante*. Por peso constante se entiende un nivel de secado de la muestra tal que los cambios de masa sean inferiores a $0,5 \text{ mg}$ en dos operaciones sucesivas consistentes en secar en estufa, enfriar y pesar. Para muestras de minerales y suelos, el secado debe realizarse a una temperatura entre $103\text{-}105 \text{ }^\circ\text{C}$. Para muestras de vegetales, se recomienda un secado a temperatura máxima de $60 \text{ }^\circ\text{C}$ para evitar la descomposición de la muestra, así como pérdidas de compuestos levemente volátiles.

b) La adición a la muestra pulverizada de un diluyente de baja absorción (carbonato de litio, ácido bórico, carbón o papel de filtro) ayuda a reducir los efectos de absorción-refuerzo. Para la determinación de elementos de número atómico alto en matrices de número atómico bajo, es muy conveniente añadir a la muestra un compuesto con coeficiente de absorción másico alto, como el óxido de lantano, con el fin de incrementar la linealidad de las rectas de calibración.

c) Para obtener una buena compactación en las pastillas, se suele añadir un aglomerante en pequeña cantidad (generalmente entre el 5 y el 10% de la cantidad total de la muestra). Los aglomerantes más usados son el ácido bórico, ácido esteárico, nitrocelulosa y ceras comerciales.

Como siempre, será preciso tener en cuenta el efecto de matriz, por lo que en la obtención de las rectas de calibrado habrá que definir muy claramente la matriz que se ha usado. En el caso de intentar analizar muestras con diferente matriz a la de los patrones de la curva de calibración será preciso efectuar las correcciones necesarias consistentes en cálculos numéricos de las interacciones entre los elementos que componen cada matriz determinada o bien mediante el empleo de patrones internos.

9.6.3. Análisis de vegetales

En general, el análisis de especies vegetales utilizando técnicas instrumentales tradicionales como absorción atómica o plasma inductivamente acoplado, requiere la disolución de las muestras mediante digestión ácida. Frente a este tipo de procedimientos, la espectrometría de fluorescencia de rayos X provee una mínima intervención de la muestra, mejor reproducibilidad y una precisión comparable a la espectrometría de plasma inductivamente acoplado.

Para realizar el análisis de muestras de vegetales por FRX, éstas deben ser primero secadas, pulverizadas y procesadas, realizándose el análisis directo del polvo obtenido o a través de una pastilla prensada (*pressed pellet*). Una vez realizado este procedimiento, las muestras están en condiciones óptimas para la determinación de elementos macronutrientes (calcio, magnesio, potasio, fósforo y azufre), micronutrientes (hierro, manganeso, cobre y cinc) y otros elementos importantes tales como sodio, aluminio, silicio, cloruro y plomo.

La preparación de las muestras para FRX se caracteriza por su simplicidad, rapidez y mínima manipulación de la muestra. Otra ventaja es el reducido tiempo de análisis, ya que sólo en unos pocos minutos se pueden determinar cuantitativamente entre 10 a 20 elementos químicos.

9.6.4. Análisis de aguas naturales, líquidos y soluciones

En algunas oportunidades es posible que la concentración de un elemento en una muestra sea demasiado baja como para permitir su determinación directa por XRF. Un ejemplo de esto es la determinación de elementos trazas en aguas naturales. Ante este problema se hace necesario desarrollar modificaciones en la técnica que permitan disminuir el rango de concentraciones detectadas por el espectrómetro. Entre los principales métodos para lograr este objetivo, se pueden describir los siguientes:

a) Método directo: consiste en la medición directa en el instrumento de XRF de un volumen determinado de muestra líquida. Uno de los principales problemas encontrados en este tipo de análisis directo nace de la necesidad de soportar la muestra. La mayoría de los espectrómetros irradia la muestra desde abajo, y producto de esto, se hace necesario el empleo de un filme de soporte (Mylar, polietileno, etc.), el cual introduce algunos efectos negativos en el proceso de cuantificación. En primer lugar, este filme de soporte tiene el efecto de atenuar la señal de las líneas características de longitud de onda más larga y, segundo, introduce un incremento significativo en el valor de la intensidad del blanco. La absorción por el aire también es un factor importante para la medición de longitudes de onda mayores a 2 Å. La necesidad de trabajar en una atmósfera de helio introduce más atenuación de las señales de longitud de onda más larga. Debido a todo lo anteriormente descrito, en casi todos los casos, se hace necesario aplicar alguna técnica de preconcentración a las muestras de agua previa a la etapa de análisis.

b) Concentración por evaporación: una solución líquida corresponde al tipo de muestra ideal para el análisis directo por XRF, gracias a su elevada homogeneidad. Sin embargo, es común que en estas soluciones los elementos a analizar se encuentren presentes en concentraciones muy bajas como para entregar una señal analítica por sobre el *background* instrumental. Es en estos casos, cuando se deben emplear técnicas de preconcentración que permitan llevar la concentración del analito dentro del rango de cuantificación del espectrómetro. En principio, esto podría conseguirse fácilmente mediante un adecuado y cuidadoso proceso de evaporación, que reduzca el contenido total de solvente aumentando la concentración del analito en solución. En teoría, no sería indispensable llevar la muestra a completa sequedad; sin embargo, en la práctica, esto es mucho más conveniente, ya que permite obtener una muestra más fácil de manipular. Desafortunadamente, llevar la muestra a sequedad causa problemas experimentales producto de la cristalización no homogénea de los diferentes analitos que la componen. Es debido a estas razones prácticas que los procesos de concentración vía evaporación han encontrado sólo limitadas aplicaciones en el pretratamiento de muestras para XRF.

c) Intercambio iónico: éste ha sido el método de preconcentración más ampliamente empleado y estudiado. Se basa en el empleo de una resina de intercambio iónico formada por diversos grupos funcionales que se encuentran inmovilizados sobre un substrato sólido. Esto provee la posibilidad de realizar extracciones en sistema *batch* de iones presentes en solución. Una vez separado el analito desde la matriz original, puede analizarse directamente sobre la resina de intercambio en que se encuentra fijado, o analizarse como una muestra separada una vez que se ha reeluido el analito desde la resina. El éxito del método depende en gran medida de la eficiencia de la resina, lo cual depende, a su vez, de

la afinidad del material de intercambio iónico por los iones de interés y la estabilidad de los complejos de estos iones en solución.

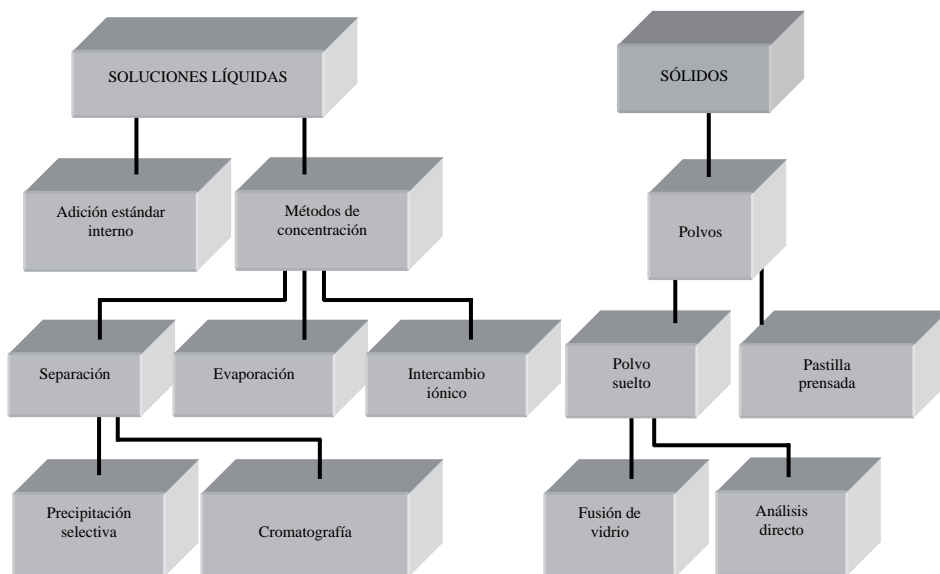


Figura 4. Principales procedimientos de preparación de muestras

9.7. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO TOTAL EN AGUAS NATURALES MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X DE ENERGÍA DISPERSIVA

SECCION A.- PROCEDIMIENTO

9.7.1. Aplicación

9.7.1.1. Este método es aplicable a la determinación de arsénico en aguas naturales tanto superficiales como subterráneas.

9.7.1.2. El procedimiento descrito a continuación ha sido elaborado para la determinación del contenido de arsénico total, sin considerar diferencias entre especies inorgánicas u orgánicas, ni de estados de oxidación.

9.7.1.3. El límite de detección del método es $18,2 \mu\text{g L}^{-1}$ (empleando la línea $\text{AsK}\alpha$).

9.7.1.4. Mediante este método se puede determinar el arsénico en un rango de 20 a $1000 \mu\text{g As L}^{-1}$. También es posible la determinación de concentraciones mayores de arsénico, previa dilución de la muestra.

9.7.2. Resumen del método

9.7.2.1. Para la determinación del contenido de arsénico total en una muestra de agua con un contenido arsenical en el rango de $\text{los } \mu\text{g As L}^{-1}$, se debe considerar una etapa inicial de preconcentración que permita ubicar la concentración del analito dentro del rango de cuantificación del espectrómetro. Esto se consigue evaporando un volumen conocido de la muestra problema sobre un film de Mylar que contenga una cantidad fija de un patrón

interno. Finalmente, se realiza la lectura directa de la concentración de arsénico total en la muestra mediante espectrometría de fluorescencia de rayos X de energía dispersiva (EDXRF) utilizando la línea $AsK\alpha$.

9.7.3. Precauciones de seguridad

9.7.3.1. Se requieren guantes quirúrgicos, anteojos de protección y máscaras con filtro para material fino en suspensión, proveniente de los procesos de molienda y preparación de las muestras y estándares de calibrado.

9.7.3.2. Cada reactivo debe ser considerado como un peligro potencial para la salud, y la exposición a estos compuestos debe ser minimizada por buenas prácticas de laboratorio.

9.7.3.3. La manipulación del óxido de arsénico(III) sólido debe realizarse con guantes y máscara con filtro, y se debe evitar la inhalación y el contacto con la piel.

9.7.3.4. Se debe lavar escrupulosamente las manos después de manipular los reactivos estándares de arsénico.

9.7.3.5. El espectrómetro de fluorescencia de rayos X consta de un mecanismo de seguridad para la protección de los usuarios a la exposición a los rayos X bajo las condiciones normales de operación. Sin embargo, los usuarios deben ser cuidadosos de no operar el instrumento en forma inapropiada. De lo contrario, los usuarios pueden resultar expuestos a los rayos X.

9.7.3.6. Se debe asegurar la limpieza a diario del instrumento.

9.7.4. Precauciones técnicas

9.7.4.1. Las soluciones estándar de 100 mg As L⁻¹, 10,00 mg As L⁻¹ y 1,00 mg As L⁻¹ se preparan cada dos meses. Los estándares de la calibración se preparan el día del análisis.

9.7.4.2. En el caso de mediciones cuantitativas empleando el método de calibración, el valor cuantitativo obtenido depende fuertemente de la intensidad de la radiación X. Es por esta razón que, para obtener mediciones más precisas, es muy importante la estabilidad de salida del tubo de rayos X. Debe esperarse aproximadamente una hora después de encender el tubo de rayos X hasta alcanzar la suficiente estabilidad.

9.7.4.3. Verificar que la celda de lectura se encuentra limpia y que la película que cierra uno de sus extremos no presente rayaduras, imperfecciones y se encuentre completamente estirada.

9.7.4.4. Lavado del material de trabajo: el material de trabajo empleado en este análisis considera principalmente a los recipientes contenedores de muestras y estándares y las celdas para realizar las lecturas en el espectrómetro. En el caso de los frascos contenedores, estos pueden ser de vidrio borosilicato o polietileno [16-18]. En cuanto a las celdas para lectura, deben ser de polietileno. En ambos casos, los materiales deben ser lavados y enjuagados de acuerdo a los siguientes pasos:

- Se enjuaga con agua de grifo, inmediatamente después de que se ha usado en el análisis.

- Se separa la vidriería que presenta roturas o rajaduras. Este material se deposita en los contenedores para vidriería en desuso.

- Se remueven las etiquetas y los grabados utilizando alcohol industrial y una esponja.

- Se enjuaga con abundante agua de grifo.

- Se lava con una escobilla de tamaño y forma adecuada, fregando por dentro de la vidriería con solución de detergente especial (Extrán neutro Merck o similar) para limpieza de material de vidrio.

- Se enjuaga con abundante agua de grifo para remover los residuos de detergente.
- Se colocan los frascos en una solución de ácido nítrico 1:3. Es aconsejable dejar los frascos en el baño de ácido durante 8 horas como mínimo.
- Se enjuaga con abundante agua de grifo.
- Se enjuaga con pequeñas porciones de agua destilada por tres veces.
- Se enjuaga con agua ultrapura o desionizada (conductividad eléctrica $< 0,045 \mu\text{S cm}^{-1}$) [19, 20].
- Se deja escurrir. Si se requiere acelerar el proceso de secado, el material se dispondrá en una estufa a una temperatura máxima de $50 \text{ }^\circ\text{C}$.

9.7.4.5. La vidriería utilizada en el análisis de trazas de metales (frascos para almacenar reactivos, frascos Erlenmeyer, pipetas, probetas y otros) debe seguir el mismo procedimiento de limpieza, y se aconseja que este material sólo se utilice en los análisis de arsénico. Todo el material debe ser lavado antes de su uso y, una vez limpio, no debe ser destapado y expuesto al ambiente a excepción de lo estrictamente necesario.

9.7.5. Interferencias

La determinación de arsénico mediante EDXRF está prácticamente libre de interferencias. Sólo el plomo con su línea PbL_α se presenta como un interferente importante cuando se desea emplear la línea AsK_α para realizar la determinación de arsénico total. Esta interferencia se evita al emplear la línea AsK_β . Sin embargo, en aguas naturales, el plomo se presenta en niveles muy bajos que no interfieren significativamente en esta determinación.

9.7.6. Instrumental/materiales

- Espectrómetro de Fluorescencia de Rayos X de Energía Dispersiva, Shimadzu modelo EDX 900HS, con tubo de rayos X de Rh, sistema detector con enfriamiento electrónico y torreta portamuestras de 16 posiciones para análisis secuencial de muestras bajo atmósfera de vacío.
- Balanza analítica con precisión al 0,1 mg (AND GR-200).
- Film de Mylar® (6 μm de espesor, N° 0202-86501-56).
- Celdas portamuestras (31 mm Open Ended X-Cell, N° 3571, 10 mL, SPEX Sample Prep).
- Frascos de plástico de 100 mL con tapa.
- Estufa con circulación de aire capaz de mantener una temperatura de $40 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ (no indispensable).
- Frascos Erlenmeyer de 300 mL.
- Probetas de 50,0 mL.
- Pipetas volumétricas clase A de 1; 2; 3; 5 y 10 mL.
- Pipetas graduadas de 10 mL.
- Frascos volumétricos de 50, 100 y 1000 mL.
- Frascos de plástico de 250 mL con tapa.

9.7.7. Reactivos

Nota: se deben utilizar reactivos de grado analítico o superior y que cumplan las normas internacionales de calidad (ACS, ISO).

Nota: todos los reactivos se deben almacenar en recipientes adecuados, provistos de etiquetas indicando el nombre del reactivo, fecha de preparación, tiempo de duración del

reactivo e iniciales del analista.

9.7.7.1. Óxido de arsénico (III), As_2O_3 , calidad ACS, ISO.

9.7.7.2. Elemento patrón interno (que su señal varíe proporcionalmente a la señal del arsénico).

9.7.7.3. Agua ultrapura grado reactivo tipo I según especificación del *Standard Methods*.

9.7.7.4. Ácido nítrico (HNO_3) concentrado (65% m/m), p.a.

9.7.7.5. Solución madre 1,0 g As L^{-1} . Solución estándar de As (estándar disponible comercialmente). Si se usa trióxido de arsénico, se pesa 1,320 g de trióxido de arsénico As_2O_3 , y se diluye en 10 mL de agua ultrapura (conductividad eléctrica $< 0,045 \mu\text{S cm}^{-1}$) que contiene 4,0 g de NaOH, y se diluye con agua ultrapura hasta 1000 mL. 1,0 mL = 1000 $\mu\text{g As}$.

9.7.7.6. Solución estándar 100 mg As L^{-1} . Se diluye 10,0 mL de solución madre 1,0 g As L^{-1} con agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 100 mL (1,0 mL = 100,0 $\mu\text{g As}$).

9.7.7.7. Solución estándar 10,0 mg As L^{-1} . Se diluye 10,0 mL de solución estándar 100 mg As L^{-1} con agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 100 mL (1,0 mL = 10,0 $\mu\text{g As}$).

9.7.7.8. Solución estándar 1,0 mg As L^{-1} . Se diluye 10,0 mL de solución estándar 10,0 mg As L^{-1} con agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 100 mL (1,0 mL = 1 $\mu\text{g As}$).

9.7.8. Calibración del equipo

Para el manejo del espectrómetro de rayos X, consúltese el manual de operación del equipo.

- Se enciende el espectrómetro de rayos X.
- Se enciende la computadora.
- Se ingresa al icono *EDX Software*.
- Ingresar al ícono *Maintenance*. Una vez que aparezca la señal *Detector Temp OK*, accionar la opción *Initialize Instrument*.

- Cuando haya terminado la inicialización del instrumento, ingresar al ícono *Instrument Setup*. Se presiona la opción *Startup*. Se espera un período de 1 hora para lograr la estabilización del instrumento antes de seguir con la siguiente etapa.

- Ingresar la opción *Instrument Calibration*. Ubicar el estándar de "Aluminio A750" en la torreta portamuestras y presionar la opción *Start*.

- Una vez terminada la calibración, se procede a llamar la planilla de trabajo para la determinación de arsénico. Esta planilla fija las siguientes condiciones de lectura en el instrumento EDXRF:

Condiciones instrumentales

- Instrumento: Espectrómetro de fluorescencia de energía dispersiva de rayos X EDX-900HS Shimadzu
- Tubo de rayos X de Rh
- Voltaje del tubo 50 kV
- Corriente del tubo 100 μA
- Colimador de 10 mm
- Atmósfera vacío
- Tiempo real de integración 100 segundos
- Filtro primario de níquel
- Programa de operación DXP-700E Versión 1.00 Rel. 017

- Se ingresa a la opción *Sample Schedule*. Se selecciona *Standard*. Se ingresa el nombre de los estándares, asignándoles una posición en la torreta del instrumento.
- Se ubican los estándares en la torreta del instrumento.
- Se inicia el análisis seleccionando *Start*, recorriéndose las intensidades de fluorescencia para la serie de estándares.

9.7.9. Calibración del método

Los estándares de arsénico se preparan añadiendo volúmenes conocidos del estándar de 1,0 mg As L⁻¹ diluidos en matraces volumétricos aforo de 100 mL. Antes de enrasar los estándares, se les debe agregar el patrón interno. Los volúmenes necesarios para la preparación de cada uno de los patrones de calibrado se mencionan en la Tabla 1.

Tabla 1. Volúmenes de la solución estándar 1,0 mg As L⁻¹.

Volumen a adicionar (mL)	Concentración de As (mg L ⁻¹)
1	0,01
3	0,03
5	0,05
10	0,10
30	0,30
50	0,50
70	0,70
100	1,00

i) Se observa la linealidad de la curva de calibración en la pantalla mediante el valor del factor de correlación r , el cual debe ser mayor o igual a 0,995. Si el valor es menor, repetir la curva de calibración; de mantenerse el problema, suspender el análisis y revisar los estándares de calibración.

ii) Se verifica la linealidad de la curva de calibración con dos estándares de control, uno de nivel alto y otro de nivel bajo del rango de calibración.

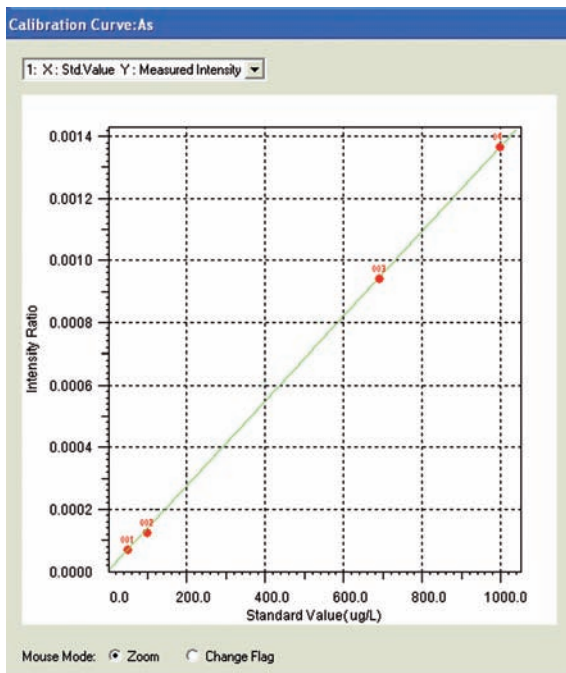


Figura 5. Curva de calibración para la determinación de arsénico total en aguas naturales. Condiciones de la muestra y estándares: volumen de 100 μL , conteniendo un patrón interno, secada sobre film de MylarTM de 6 μm de grosor. Condiciones instrumentales: Espectrómetro EDX-900HS Shimadzu, atmósfera vacío, tubo de rayos X de Rh, voltaje del tubo 50 kV, corriente del tubo 100 μA , colimador de 10 mm, tiempo real de integración 100 segundos. Programa de operación DXP-700E Versión 1.00 Rel. 017.

9.7.10. Preparación de la muestra.

- Se debe iniciar la preparación de las muestras y estándares acidificándolas con 2 mL de HNO_3 14 mol L^{-1} .
- El procedimiento consiste en el secado de 100 μL de muestra conteniendo el patrón interno, sobre un film de Mylar de 6 μm de espesor, estirado sobre el fondo de una celda de polietileno.
 - Las muestras son secadas a 50 $^\circ\text{C}$ por dos horas.
 - Se realiza la lectura directa en el instrumento de rayos X.

9.7.11. Análisis de datos

- El contenido de arsénico total en las muestras es calculado automáticamente por el instrumento.
- El resultado se debe reportar en $\mu\text{g As L}^{-1} \pm \text{I}$.

9.7.12. Límite de detección

El límite de detección del método (LDM) es de 18,2 $\mu\text{g As L}^{-1}$.

SECCION B.- CONTROL DE CALIDAD

9.7.13. Control de la exactitud

Para comprobar la exactitud del análisis se puede usar una muestra de control del NIST (*National Institute of Standards and Technology* de EE.UU.), EPA (Agencia de Protección Ambiental de EE.UU.), una muestra de control preparada en el laboratorio u otro material de referencia. Se manipula el contenido del material según las instrucciones y se analiza como se describe en la Sección de Procedimiento. Se compara el resultado con su valor de referencia y límites de aceptación. Los resultados obtenidos deben estar dentro de los límites de control establecidos. Cuando el resultado no se encuentre dentro del rango de los límites, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis. Los límites de control se verifican anualmente o si se realizan modificaciones en el método. La muestra de control se analiza cada 15 días [21-23].

9.7.14. Control de la precisión

En el caso del análisis de una serie de muestras, se debe realizar un duplicado después de cada 10 muestras [23-25]. El porcentaje de la desviación promedio relativa (RPD) no debe ser mayor del 10%. Sólo para los duplicados cuyas concentraciones se encuentren en el orden de 1 y 5 veces el límite de detección del método (LDM), el porcentaje RPD puede ser menor o igual a 20%.

$$RPD = \frac{C_1 - C_{1-d}}{(C_1 + C_{1-d})/2} * 100 \quad (9.2)$$

donde:

RPD: desviación promedio relativa

C_1 : concentración de la muestra

C_{1-d} : concentración de la muestra duplicada

De no cumplirse esta regla, se debe repetir el análisis de la muestra y su duplicado. En caso contrario repita el lote de muestras analizadas.

9.7.15. Adición de estándar

En cada lote de muestras se analiza una muestra por duplicado; al duplicado se le agrega 2 mL de solución estándar de arsénico 1 mg L⁻¹. El porcentaje de recuperación del estándar debe estar entre el 90% y 110%. De no cumplirse esta regla, se debe repetir el análisis de la muestra y su duplicado con la adición. En caso de que no se logre la recuperación esperada, repita el lote de muestras analizadas.

9.7.16. Control de blancos

En cada lote de muestras se analiza un blanco de trabajo; los blancos analíticos deben estar preparados con agua ultrapura para lote de muestra y tratados de la misma forma que las muestras, para identificar posibles fuentes de contaminación (blanco de reactivos del método). El resultado obtenido debe ser menor que el límite de detección del método (LDM).

9.7.17. Estándares de verificación

La curva de calibración se verifica con 2 estándares de 40,0 y 60,0 $\mu\text{g As L}^{-1}$ con cada lote de muestras. Los estándares de verificación se preparan a partir de una solución estándar diferente a la utilizada para la preparación de la curva de calibración. El valor obtenido no debe diferir de $\pm 10\%$ del valor del estándar. En caso contrario, preparar una nueva curva de calibración.

9.7.18. Cartas de control

Se deben mantener al día las cartas de control para los blancos, las muestras duplicadas y los estándares de verificación. Calcular los límites de control y advertencia. Inmediatamente después de analizar las muestras control, graficar el valor en la carta de control. Se debe tomar una acción correctiva en los siguientes casos:

- Si el valor determinado está fuera de los límites de control, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis.
- Si 2 de 3 valores determinados sucesivamente están fuera de los límites de advertencia, se debe revisar el procedimiento y repetir el análisis.
- Si 7 de 8 valores determinados sucesivamente se encuentran al mismo lado de la línea promedio, se debe revisar el procedimiento.

9.7.19. Incertidumbre

Se expresa la incertidumbre [26-31] expandida del resultado analítico mediante la siguiente ecuación:

$$I = \frac{K * Sd_{ci}}{\sqrt{n}} \quad (9.3)$$

$$Sd_{ci} = \sqrt{Sd_{ad}^2 + Sd_{mc}^2 + Sd_{dup}^2} \quad (9.4)$$

donde:

I = incertidumbre del resultado analítico

K = distribución t de Student de 2 colas para (n-1) grados de libertad con un intervalo de confianza de 95 % (si $n \geq 30$, $k = 2$)

Sd_{ci} = incertidumbre estándar combinada para un nivel i

Sd_{mc} = desviación estándar de muestra de control para un nivel i

Sd_{ad} = desviación estándar de muestra de fortificada para un nivel i

Sd_{dup} = desviación estándar de muestras duplicadas para un nivel i

Reporte la concentración de la muestra como $C \pm I$.

9.8. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO TOTAL EN SUELOS MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X DE ENERGÍA DISPERSIVA

SECCION A. - PROCEDIMIENTO

9.8.1. Aplicación

9.8.1.1. Este método es aplicable a la determinación de arsénico en muestras de suelos agrícolas o urbanos que deban su presencia a fuentes de tipo natural o antrópico. La determinación se realiza directamente sobre la muestra sólida, no siendo necesaria la digestión ácida de la muestra [32, 33].

9.8.1.2. El procedimiento descrito a continuación ha sido elaborado para la determinación del contenido de arsénico total, sin considerar diferencias entre especies inorgánica u orgánica, ni de estado de oxidación.

9.8.1.3. El límite de detección del método es $4,5 \text{ mg kg}^{-1}$ (empleando la línea K_{α}).

9.8.1.4. Mediante este método se puede determinar el arsénico en un rango de 5,0 a 100,0 mg As kg^{-1} . También es posible la determinación de concentraciones mayores de arsénico, previa dilución de la muestra.

9.8.2. Resumen del método

Para determinar el contenido de arsénico total en una muestra de suelo con concentraciones en el rango de los mg kg^{-1} (partes por millón, ppm), es necesario que la muestra se encuentre en forma de polvo. Esto se consigue sometiendo la muestra a una molienda muy fina, que genere un material con una granulometría inferior a los $60 \mu\text{m}$. Finalmente se realiza la lectura directa de la concentración de arsénico total en la muestra mediante Espectrometría de Fluorescencia de rayos X de Energía Dispersiva (EDXRF) utilizando la línea K_{α} o K_{β} del elemento arsénico.

9.8.3. Precauciones de seguridad

9.8.3.1. Se requieren guantes quirúrgicos, mandiles, anteojos de protección y máscaras con filtro para material fino en suspensión, proveniente de los procesos de molienda y preparación de las muestras y estándares de calibrado.

9.8.3.2. Cada reactivo debe ser considerado como un peligro potencial a la salud y la exposición a estos compuestos debe ser minimizada por buenas prácticas de laboratorio.

9.8.3.3. La manipulación del óxido de arsénico (III) sólido debe realizarse con guantes y máscara con filtro, y se debe evitar la inhalación y el contacto con la piel.

9.8.3.4. Se debe lavar escrupulosamente las manos después de manipular los reactivos estándares de arsénico.

9.8.3.5. El espectrómetro de fluorescencia de rayos X posee con un mecanismo de seguridad para la protección de los usuarios a la exposición a los rayos X bajo las condiciones normales de operación. Sin embargo, los usuarios deben ser cuidadosos de no operar el instrumento en forma inapropiada. De lo contrario, los usuarios pueden ser expuestos a los rayos X.

9.8.3.6. Asegúrese de limpiar el instrumento a diario.

9.8.4. Precauciones técnicas

9.8.4.1. Tanto las soluciones sólidas de $100,0 \text{ mg As kg}^{-1}$, $1000 \text{ mg As kg}^{-1}$ y $10000 \text{ mg As kg}^{-1}$, como los estándares de la calibración, una vez preparados, son estables indefinidamente. Sólo deben ser almacenados en desecadora para asegurar una condición de humedad reducida, con una temperatura ambiente en torno a los $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

9.8.4.2. En el caso de mediciones cuantitativas empleando el método de calibración, el

valor cuantitativo obtenido depende fuertemente de la intensidad de la radiación X. Es por esta razón que, para obtener mediciones más precisas, es muy importante la estabilidad de salida del tubo de rayos X. Debe esperarse aproximadamente una hora después de encender el tubo de rayos X hasta alcanzar la suficiente estabilidad.

9.8.4.3. Verificar que la celda de lectura se encuentra limpia y que la película que cierra uno de sus extremos no presente rayaduras, imperfecciones y se encuentre completamente estirada.

9.8.5. Lavado del material de trabajo

El material de trabajo empleado en este análisis considera, principalmente, a los recipientes contenedores de muestras y estándares y las celdas para realizar las lecturas en el espectrómetro. En el caso de los frascos contenedores, éstos pueden ser de vidrio borosilicato o polietileno. En cuanto a las celdas para lectura, deben ser de polietileno.

En ambos casos, los materiales deben ser lavados y enjuagados de acuerdo a los siguientes pasos:

- Se enjuaga con agua de grifo, inmediatamente después que se ha usado en el análisis.
- Se separa la vidriería que presenta roturas o rajaduras. Este material se deposita en los contenedores para vidriería en desuso.
- Se remueven las etiquetas y los grabados utilizando alcohol industrial y una esponja.
- Se enjuaga con abundante agua de grifo.
- Se lava con una escobilla de tamaño y forma adecuada, fregando por dentro de la vidriería con solución de detergente especial (Extrán neutro Merck o similar) para limpieza de material de vidrio.
- Se enjuaga con abundante agua de grifo para remover los residuos de detergente.
- Se colocan los frascos en una solución de ácido nítrico 1:3. Es aconsejable dejar los frascos en el baño de ácido durante 8 horas como mínimo.
- Se enjuaga con abundante agua de grifo.
- Se enjuaga con pequeñas porciones de agua destilada por tres veces.
- Se enjuaga con agua ultrapura o desionizada (conductividad eléctrica $< 0,045 \mu\text{S cm}^{-1}$).
- Se deja escurrir. Si se requiere acelerar el proceso de secado, el material se dispondrá en una estufa a una temperatura máxima de 50°C .

La vidriería utilizada en el análisis de trazas de metales (frascos para almacenar reactivos, frascos Erlenmeyer, pipetas, probetas y otros) debe seguir el mismo procedimiento de limpieza y se aconseja que este material sólo se utilice en los análisis de arsénico. Todo el material debe ser lavado antes de su uso y, una vez limpio, no debe ser destapado y expuesto al ambiente, a excepción de lo estrictamente necesario.

9.8.6. Interferencias

La determinación de arsénico mediante EDXRF esta prácticamente libre de interferencias. Sólo el plomo con su línea PbL_α se presenta como un interferente importante cuando se desea emplear la línea AsK_α para realizar la determinación de arsénico total. Esta interferencia se evita al emplear la línea AsK_β . Sin embargo, en suelos naturales el plomo se presenta en niveles muy bajos que no interfieren significativamente en esta determinación.

9.8.7. Instrumental/materiales

Espectrómetro de Fluorescencia de Rayos X de Energía Dispersiva, Shimadzu modelo

EDX 900HS, con tubo de rayos X de Rh, sistema detector con enfriamiento electrónico y torreta portamuestras de 16 posiciones para análisis secuencial de muestras bajo atmósfera de vacío.

- Balanza analítica con precisión de 0,1 mg (AND GR-200).
- Film de Mylar® (6 µm de espesor, N° 0202-86501-56)
- Celdas porta muestras (31 mm *Open Ended X-Cell*, N° 3571, 10 mL, SPEX *Sample Prep*).
- Frascos de plástico de 100 mL con tapa.
- Martillo de madera o de otra superficie suave.
- Bandejas.
- Láminas de plástico.
- Estufa con circulación de aire capaz de mantener una temperatura de $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (no indispensable).
- Tamiz de acero inoxidable o de otro material inerte, de orificios de 2 mm.
- Mortero y pistilo de porcelana.
- Mortero y pistilo de ágata.
- Bolsas o frascos de plástico con tapa para almacenar las muestras
- Tamiz de acero inoxidable o de otro material inerte, de orificios de 0,06 mm o de otro tamaño especificado en el método de análisis.

9.8.8. Reactivos

Nota: Se deben utilizar reactivos de grado analítico o superior y que cumplan las normas internacionales de calidad (ACS, ISO).

Nota: Todos los reactivos se deben almacenar en recipientes adecuados, provistos de etiquetas indicando el nombre del reactivo, fecha de preparación, tiempo de duración del reactivo e iniciales del analista.

9.8.8.1. Óxido de arsénico (III), As_2O_3 , calidad ACS, ISO.

9.8.8.2. Óxido de lantano, La_2O_3 , calidad ACS, ISO.

9.8.8.3. Matriz inorgánica similar a la muestra.

9.8.8.4. Solución estándar de 100000 mg As kg^{-1} . Se pesan 0,6601 g de trióxido de arsénico As_2O_3 finamente pulverizado, y se diluye a 5,0000 g con la matriz inorgánica. Homogeneizar bien. 1,0 g = 100,0 mg As.

9.8.8.5. Solución estándar 10000 mg As kg^{-1} . Se diluye 0,5000 g de la solución estándar de 100000 mg As kg^{-1} con la matriz inorgánica hasta una masa final de 5,0000 g. 1,0 g = 10,0 mg As.

9.8.8.6. Solución estándar 1000 mg As kg^{-1} . Se diluye 0,5000 g de la solución estándar de 10 000 mg As kg^{-1} con la matriz inorgánica hasta una masa final de 5,0000 g. 1,0 g = 1,0 mg As.

9.8.8.7. Solución estándar 100 mg As kg^{-1} . Se diluye 0,5000 g de la solución estándar de 1000 mg As kg^{-1} con la matriz inorgánica hasta una masa final de 5,0000 g. 1,0 g = 0,10 mg As.

9.8.9. Calibración del equipo

Para el manejo del espectrómetro de rayos X, consúltese el manual de operación del equipo.

- Se enciende el espectrómetro de rayos X.
- Se enciende la computadora.

- Se ingresa al icono *EDX Software*.
- Ingresar al ícono *Maintenance*. Una vez aparezca la señal *Detector Temp OK*, accionar la opción *Initialize Instrument*
- Terminada la inicialización del instrumento ingresar al ícono *Instrument Setup*. Se presiona la opción *Startup*. Se espera un período de una hora para lograr la estabilización del instrumento antes de seguir con la siguiente etapa.
- Ingresar la opción *Instrument Calibration*. Ubicar el estándar de “Aluminio A750” en la torreta portamuestras y presionar la opción *Start*.
- Una vez terminada la calibración se procede a llamar la planilla de trabajo para la determinación de arsénico. Esta planilla fija las siguientes condiciones de lectura en el instrumento EDXRF:

Condiciones instrumentales:

- Instrumento: Espectrómetro de fluorescencia de energía dispersiva de rayos X EDX-900HS Shimadzu
- Tubo de rayos X de Rh
- Voltaje del tubo 50 kV
- Corriente del tubo 100 μ A,
- Colimador de 10 mm
- Atmósfera vacío
- Tiempo real de integración 100 segundos
- Filtro primario de níquel
- Programa de operación DXP-700E Versión 1.00 Rel. 017
- Se ingresa a la opción *Sample Schedule*. Se selecciona *Standard*. Se ingresa el nombre de los estándares, asignándoles una posición en la torreta del instrumento.
- Se ubican los estándares en la torreta del instrumento.
- Se inicia el análisis seleccionando *Start*, recogiéndose las intensidades de fluorescencia para la serie de estándares.

9.8.10. Calibración del método

Los estándares de arsénico se preparan pesando distintas cantidades del estándar de 100 mg kg⁻¹, en una balanza analítica, y llevándolas a una masa final de 5,0000 g con la matriz inorgánica.

Tabla 2. Masas de la solución estándar 100 mg As kg⁻¹.

Masa a adicionar (g)	Concentración de As (mg kg ⁻¹)
0,2500	5,0
0,5000	10,0
1,0000	20,0
1,5000	30,0
2,0000	40,0
2,5000	50,0
3,0000	60,0
3,5000	70,0
4,0000	80,0
4,5000	90,0
5,0000	100,0

i) Se observa la linealidad de la curva de calibración en la pantalla mediante el valor del factor de correlación r , el cual debe ser mayor o igual a 0,995. Si el valor es menor repetir la curva de calibración, de mantenerse el problema suspender el análisis y revisar los estándares de calibración.

ii) Se verifica la linealidad de la curva de calibración con dos estándares de control, uno de nivel alto y otro de nivel bajo del rango de calibración.

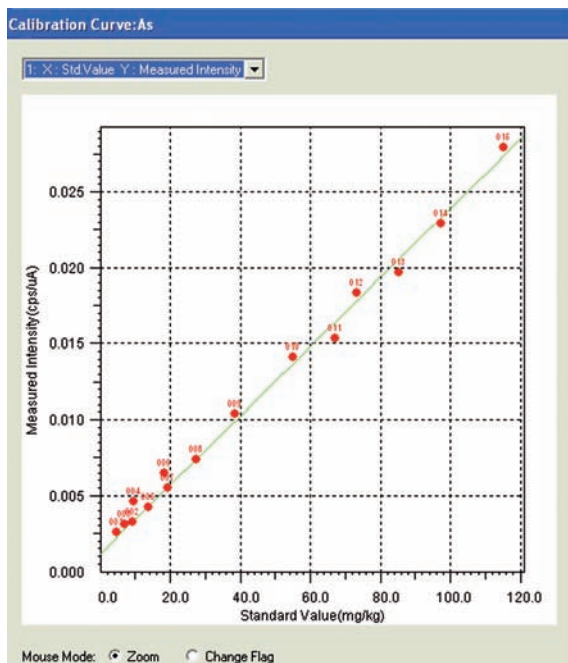


Figura 6. Curva de calibración para la determinación de arsénico total en suelos. Condiciones de la muestra y estándares: polvo seco, tamaño de partícula < 60 μm, ventana de la celda cubierta con film de Myler™ de 6 μm de grosor. Condiciones instrumentales: espectrómetro EDX-900HS Shimadzu, atmósfera vacío, tubo de rayos X de Rh, voltaje del tubo 50 kV, corriente del tubo 100 μA, colimador de 10 mm, tiempo real de integración 100 segundos, filtro primario de níquel. Programa de operación DXP-700E Versión 1.00 Rel. 017.

9.8.11. Preparación de la muestra

9.8.11.1. La muestra de suelo debe ser acondicionada con el fin de obtener un material homogéneo y estable, apto para los análisis químicos y físicos. Estos análisis generalmente se determinan en la fracción fina de suelo (< 2 mm), el cual se ha secado a una temperatura no superior a 40°C, hasta masa constante, constituyendo lo que se denomina “suelo seco al aire”. Las ventajas de usar el suelo seco al aire radica en que posee un contenido de humedad óptimo que facilita su manipulación y procesamiento. La masa de suelo seco al aire permanece relativamente constante y la actividad biológica es baja durante el almacenaje [34-37].

9.8.11.2. El secado de la muestra en una estufa a 40°C es preferible al secado a temperatura ambiente porque el aumento en la velocidad de secado limita los cambios debidos a la actividad microbiológica.

9.8.11.3. Para homogenizar la muestra de suelo, se debe disgregar los terrones manualmente o mediante presión con un martillo de madera, eliminando los residuos

vegetales de mayor tamaño, como rocas, raíces, tallos y hojas.

9.8.11.4. Separar una fracción de al menos 500 g de la muestra de suelo y esparcirla sobre una bandeja cubierta con una lámina de plástico.

9.8.11.5. Secar la muestra ya sea al aire, dejando la bandeja en un ambiente ventilado libre de contaminación, o bien en estufa a una temperatura no superior a 40°C, hasta que la pérdida de masa no sea mayor del 5% en 24 horas.

9.8.11.6. Una vez seca, tamizar la muestra a través del tamiz de 2 mm. Los terrones que no pasan por el tamiz se desintegran, sin moler, en el mortero y se tamiza nuevamente. Los fragmentos o piedras que permanecen en el tamiz se eliminan.

9.8.11.7. La muestra de fracción < 2 mm se homogeniza nuevamente y se almacena en una bolsa o frasco plástico. Esta constituye la muestra de suelo seco al aire que se somete a los procedimientos analíticos usuales y que permanece como contramuestra.

9.8.11.8. Si la cantidad de muestra es excesiva para almacenarla, obtener una contramuestra mediante el sistema de cuarteo. Esto es, esparcir la muestra formando una capa delgada, dividirla en cuatro porciones iguales, combinar dos de las cuatro porciones diagonales, descartando las otras dos. Repetir este procedimiento hasta obtener la cantidad deseada de muestra de suelo.

9.8.11.9. Finalmente la muestra de suelo se somete a molienda fina en mortero de ágata o mediante sistema de molino de bolas, asegurando un tamaño final de partícula menor a 60 µm. Para esto se muelen alrededor de 5 a 10 g de muestra de suelo hasta pasarla totalmente a través de un tamiz de menor o igual a 0,06 mm. La muestra obtenida se almacena en frascos de polietileno de 100 mL hasta su análisis.

9.8.12. Análisis de datos

9.8.12.1. El contenido de arsénico total en las muestras es calculado automáticamente por el instrumento.

9.8.12.2. El resultado se debe reportar en mg As kg⁻¹ ± I, donde I corresponde a la incertidumbre.

9.8.13. Límite de detección

El límite de detección del método (LDM) es de 4,5 mg As kg⁻¹.

SECCION B.- CONTROL DE CALIDAD

Las restantes herramientas empleadas para el control estadístico de la calidad de los resultados (control de la exactitud, control de la precisión, adición de estándar, control de blancos, estándares de verificación, cartas de control, incertidumbre), pueden ser calculadas de acuerdo a lo descrito en la Sección B del “Procedimiento de operación para la determinación de arsénico total en aguas naturales mediante espectrometría de fluorescencia de rayos x de energía dispersiva”

9.9. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO TOTAL EN VEGETALES MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X DE ENERGIA DISPERSIVASECCION

SECCION A.- PROCEDIMIENTO

9.9.1. Aplicación

9.9.1.1. Este método es aplicable a la determinación de arsénico en muestras de especies vegetales. La determinación se realiza directamente sobre la muestra sólida, no siendo necesaria la digestión ácida de la muestra.

9.9.1.2. El procedimiento descrito a continuación ha sido elaborado para la determinación del contenido de arsénico total, sin considerar diferencias entre especies inorgánica u orgánica, ni de estado de oxidación.

9.9.1.3. El límite de detección del método es 4,2 mg kg⁻¹ (empleando la línea AsK_α).

9.9.1.4. Mediante este método se puede determinar el arsénico en un rango de 5,0 a 50,0 mg As kg⁻¹. También es posible la determinación de concentraciones mayores de arsénico, previa dilución de la muestra.

9.9.2. Resumen del método

Para determinar el contenido de arsénico total en una muestra de muestra vegetal con concentraciones en el rango de los mg kg⁻¹ (partes por millón, ppm), es necesario que la muestra se encuentre en forma de polvo. Esto se consigue sometiendo la muestra a una molienda muy fina, que genere un material con una granulometría inferior a los 60 μm. Finalmente se realiza la lectura directa de la concentración de arsénico total en la muestra mediante espectrometría de fluorescencia de rayos X de energía dispersiva (EDXRF) utilizando la línea K_α o K_β del elemento arsénico.

9.9.3. Precauciones de seguridad

9.9.3.1. Se requieren guantes quirúrgicos, anteojos de protección y máscaras con filtro para material fino en suspensión, proveniente de los procesos de molienda y preparación de las muestras y estándares de calibrado.

9.9.3.2. Cada reactivo debe ser considerado como un peligro potencial a la salud y la exposición a estos compuestos debe ser minimizada por buenas prácticas de laboratorio.

9.9.3.3. La manipulación del óxido de arsénico (III) sólido debe realizarse con guantes y máscara con filtro, y se debe evitar la inhalación y el contacto con la piel.

9.9.3.4. Se deben lavar escrupulosamente las manos después de manipular los reactivos estándares de arsénico.

9.9.3.5. El espectrómetro de fluorescencia de rayos X posee un mecanismo de seguridad para la protección de los usuarios de la exposición a los rayos X bajo las condiciones normales de operación. Sin embargo, los usuarios deben ser cuidadosos de no operar el instrumento en forma inapropiada. De lo contrario, los usuarios pueden ser expuestos a los rayos X.

9.9.3.6. Asegúrese de limpiar el instrumento a diario.

9.9.4. Precauciones técnicas

9.9.4.1. Tanto las soluciones sólidas de 100,0 mg As kg⁻¹, 1000 mg As kg⁻¹ y 10000 mg As kg⁻¹, como los estándares de la calibración, una vez preparados, son estables indefinidamente. Sólo deben ser almacenados en desecadora para asegurar una condición de humedad reducida, con una temperatura ambiente en torno a los 20 °C.

9.9.4.2. En el caso de mediciones cuantitativas empleando el método de calibración, el valor cuantitativo obtenido depende fuertemente de la intensidad de la radiación X. Es por esta razón que para obtener mediciones más precisas, es muy importante la estabilidad de salida del tubo de rayos X. Debe esperarse aproximadamente una hora, después de encender el tubo de rayos X, hasta alcanzar la suficiente estabilidad.

9.9.4.3. Verificar que la celda de lectura se encuentra limpia y que la película de film que cierra uno de sus extremos no presente rayaduras, imperfecciones y se encuentre completamente estirada.

9.9.5. Lavado del material de trabajo

El material de trabajo empleado en este análisis considera principalmente a los recipientes contenedores de muestras y estándares y las celdas para realizar las lecturas en el espectrómetro. En el caso de los frascos contenedores, estos pueden ser de vidrio borosilicato o polietileno. En cuanto a las celdas para lectura deben ser de polietileno. En ambos casos los materiales deben ser lavados y enjuagados de acuerdo a los siguientes pasos:

- Se enjuaga con agua de grifo, inmediatamente después de que se ha usado en el análisis.

- Se separa la vidriería que presenta roturas o rajaduras. Este material se deposita en los contenedores para vidriería en desuso.

- Se remueven las etiquetas y los grabados utilizando alcohol industrial y una esponja.

- Se enjuaga con abundante agua de grifo.

- Se lava con una escobilla de tamaño y forma adecuada, fregando por dentro de la vidriería con solución de detergente especial (Extrán neutro Merck o similar) para limpieza de material de vidrio.

- Se enjuaga con abundante agua de grifo para remover los residuos de detergente.

- Se colocan los frascos en una solución de ácido nítrico 1:3. Es aconsejable dejar los frascos en el baño de ácido durante 8 horas como mínimo.

- Se enjuaga con abundante agua de grifo.

- Se enjuaga con pequeñas porciones de agua destilada por tres veces.

- Se enjuaga con agua ultrapura o desionizada (conductividad eléctrica $< 0,045 \mu\text{S cm}^{-1}$).

- Se deja escurrir. Si se requiere acelerar el proceso de secado, el material se dispondrá en una estufa a una temperatura máxima de 50°C .

La vidriería utilizada en el análisis de trazas de metales (frascos para almacenar reactivos, frascos Erlenmeyer, pipetas, probetas y otros) debe seguir el mismo procedimiento de limpieza y se aconseja que este material sólo se utilice en los análisis de arsénico. Todo el material debe ser lavado antes de su uso y, una vez limpio, no debe ser destapado y expuesto al ambiente a excepción de lo estrictamente necesario.

9.9.6. Interferencias

La determinación de arsénico mediante EDXRF esta prácticamente libre de interferencias. Sólo el plomo se presenta como un interferente importante cuando se desea emplear la línea AsK_α para realizar la determinación. Esta interferencia se evita al emplear la línea AsK_β como señal analítica. Sin embargo, en tejidos vegetales el plomo se presenta en niveles muy bajos que no interfieren significativamente.

9.9.7. Instrumental/materiales

- Espectrómetro de Fluorescencia de Rayos X de Energía Dispersiva, Shimadzu modelo EDX 900HS, con tubo de rayos X de Rh, sistema detector con enfriamiento electrónico y torreta porta muestras de 16 posiciones para análisis secuencial de muestras bajo atmósfera de vacío.

- Balanza analítica con precisión de 0,1 mg (AND GR-200).

- Film de Mylar® (6 µm de espesor, N° 0202-86501-56)

- Celdas porta muestras (31 mm *Open Ended X-Cell*, N° 3571, 10 mL, SPEX *Sample Prep*).

- Frascos de plástico de 100 mL con tapa.

- Bandejas.

- Mortero y pistilo de porcelana.

- Mortero y pistilo de ágata.

- Bolsas o frascos de plástico con tapa para almacenar las muestras.

- Tamiz de acero inoxidable o de otro material inerte, de orificios de 0,06 mm o de otro tamaño especificado en el método de análisis.

- Esponja o cepillo con cerdas de nylon.

- Estufa con aire forzado capaz de mantener una temperatura de $60 \pm 2^\circ\text{C}$.

- Molino equipado con tamices de tamaño de poro de 1,0 mm y de 0,5 mm.

- Refrigerador.

9.9.8. Reactivos

Nota: Se deben utilizar reactivos de grado analítico o superior y que cumplan las normas internacionales de calidad (ACS, ISO).

Nota: Todos los reactivos se deben almacenar en recipientes adecuados, provistos de etiquetas indicando el nombre del reactivo, fecha de preparación, tiempo de duración del reactivo e iniciales del analista.

9.9.8.1. Óxido de arsénico (III), As_2O_3 , calidad ACS, ISO.

9.9.8.2. Óxido de lantano, La_2O_3 , calidad ACS, ISO.

9.9.8.3. Matriz orgánica similar a la muestra.

9.9.8.4. Solución de detergente: preparar una solución 0,1 a 0,3% a partir de un detergente no iónico (sin fosfato).

9.9.8.5. Solución estándar de 100000 mg As kg^{-1} . Se pesa 0,6601 g de trióxido de arsénico As_2O_3 finamente pulverizado, y se diluye a 5,0000 g con la matriz orgánica. Homogeneizar bien. 1,0 g = 100,0 mg As.

9.9.8.6. Solución estándar 10000 mg As kg^{-1} . Se diluye 0,5000 g de la solución estándar de 100000 mg As kg^{-1} con la matriz orgánica hasta una masa final de 5,0000 g. 1,0 g = 10,0 mg As.

9.9.8.7. Solución estándar 1000 mg As kg^{-1} . Se diluye 0,5000 g de la solución estándar de 10000 mg As kg^{-1} con la matriz orgánica hasta una masa final de 5,0000 g. 1,0 g = 1,0 mg As.

9.9.8.8. Solución estándar 100 mg As kg^{-1} . Se diluye 0,5000 g de la solución estándar de 1 000 mg As kg^{-1} con la matriz orgánica hasta una masa final de 5,0000 g. 1,0 g = 0,10 mg As.

9.9.9. Calibración del equipo

Para el manejo del espectrómetro de rayos X, consúltese el manual de operación del equipo.

- Se enciende el espectrómetro de rayos X.
- Se enciende la computadora.
- Se ingresa al icono *EDX Software*.
- Ingresar al ícono *Maintenance*. Una vez aparezca la señal *Detector Temp OK*, accionar la opción *Initialize Instrument*
- Cuando halla terminado la inicialización del instrumento ingresar al ícono “Instrument Setup” Se presiona la opción *Startup*. Se espera un período de 1 hora para lograr la estabilización del instrumento antes de seguir con la siguiente etapa.
- Ingresar la opción *Instrument Calibration*. Ubicar el estándar de “Aluminio A750” en la torreta portamuestras y presionar la opción *Start*.
- Una vez terminada la calibración se procede a llamar la planilla de trabajo para la determinación de arsénico.

Esta planilla fija las siguientes condiciones de lectura en el instrumento EDXRF:

Condiciones instrumentales:

- Instrumento: Espectrómetro de fluorescencia de energía dispersiva de rayos X EDX-900HS Shimadzu
- Tubo de rayos X de Rh
- Voltaje del tubo 50 kV
- Corriente del tubo 100 μA
- Colimador de 10 mm
- Atmósfera vacío
- Tiempo real de integración 100 segundos
- Filtro primario de níquel
- Programa de operación DXP-700E Versión 1.00 Rel. 017
- Se ingresa a la opción *Sample Schedule*. Aquí se selecciona la opción *Standard*. Se ingresa el nombre de los estándares, asignándoles una posición en la torreta del instrumento.
- Se ubican los estándares en la torreta del instrumento.
- Se inicia el análisis seleccionando *Start*, recogiendo las intensidades de fluorescencia para la serie de estándares.
- Seleccionar el filtro primario de níquel para reducir la influencia del ruido y permitir un análisis con alta sensibilidad.
- Configurar el sistema para ser realizado bajo atmósfera de vacío.

9.9.10. Calibración del método

Los estándares de arsénico se preparan pesando distintas cantidades del estándar de 100 mg kg^{-1} , en una balanza analítica, y llevándolas a una masa final de 5,0000 g con la matriz orgánica.

Tabla 3: Masas de la solución estándar 100 mg As kg⁻¹.

Masa a adicionar (g)	Concentración de As (mg kg ⁻¹)
0,2500	5,0
0,3500	7,0
0,5000	10,0
0,6500	13,0
0,7500	15,0
0,9000	18,0
1,0000	20,0
1,2500	25,0
1,5000	30,0
1,7500	35,0

i) Se observa la linealidad de la curva de calibración en la pantalla mediante el valor del factor de correlación r, el cual debe ser mayor o igual a 0,995. Si el valor es menor repetir la curva de calibración, de mantenerse el problema suspender el análisis y revisar los estándares de calibración.

ii) Se verifica la linealidad de la curva de calibración con dos estándares de control, uno de nivel alto y otro de nivel bajo del rango de calibración.

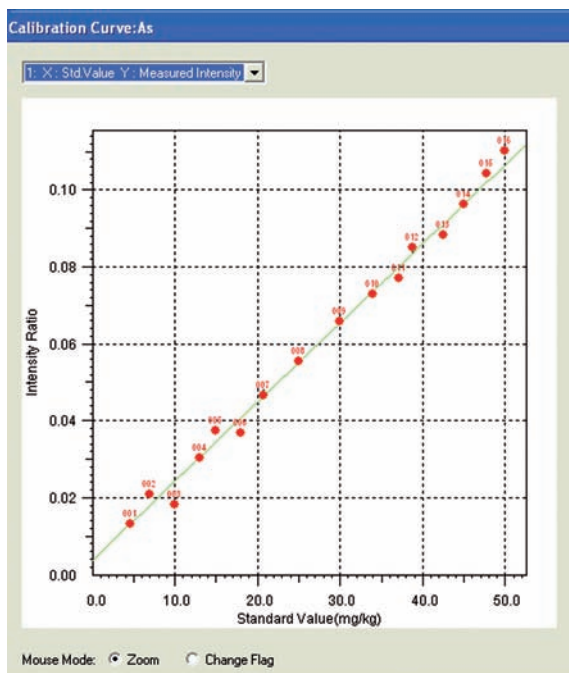


Figura 7. Curva de calibración para la determinación de arsénico total en vegetales. Condiciones de la muestra y estándares: polvo seco, tamaño de partícula < 60 μm, ventana de la celda cubierta con film de Myler™ de 6 μm de espesor. Condiciones instrumentales: Espectrómetro EDX-900HS Shimadzu, atmósfera vacío, tubo de rayos X de Rh, voltaje del tubo 50 kV, corriente del tubo 100 μA, colimador de 10 mm, tiempo real de integración 100 segundos, filtro primario de níquel. Programa de operación DXP-700E Versión 1.00 Rel. 017.

9.9.11. Preparación de la muestra

9.9.11.1. La preparación de la muestra de tejidos vegetales es crítica para obtener resultados analíticos confiables, por lo tanto, deben seguirse procedimientos adecuados para su descontaminación, secado, molienda y almacenaje [38-41].

9.9.11.2. Se debe partir examinando las muestras frescas de tejidos vegetales buscando la presencia de partículas extrañas. Si la muestra está libre de partículas extrañas no es necesario un proceso adicional de descontaminación. Las partículas de polvo se pueden eliminar mediante el empleo de un cepillo suave para descontaminar la muestra.

9.9.11.3. Si se requiere el análisis adicional de Al, Fe, Mn o Si, las muestras deben lavarse con la solución de detergente y enjuagarse con agua destilada o desionizada. Este proceso no debe durar más de 15 segundos para evitar pérdidas de nitrato, boro, potasio y cloruro. Después de la descontaminación, las muestras deben secarse inmediatamente para estabilizar el tejido y detener las reacciones enzimáticas.

9.9.11.4. Para iniciar el secado de las muestras de vegetales se deberán introducir en bolsas de papel. A continuación, colocar las bolsas en una estufa con aire forzado y secar a 70-80 °C por 12 a 24 horas.

9.9.11.5. Una vez seca, moler la muestra en un molino hasta que pase a través de un tamiz de 0,5 mm. Después de la molienda, homogenizar la muestra y separar una porción de 5 a 10 g para los análisis y almacenaje.

9.9.11.6. Colocar la porción de muestra representativa, molida y homogénea, en un recipiente hermético de plástico. Almacenar en un lugar oscuro, frío y seco. Si los análisis no se realizan inmediatamente, almacenar en refrigerador (4 °C).

9.9.11.7. Antes del análisis por XRF la muestra de vegetal se debe someter a molienda fina en mortero de ágata o mediante sistema de molino de bolas, asegurando un tamaño final de partícula menor a 60 µm. Para esto se muelen alrededor de 5 a 10 g de muestra hasta pasarla totalmente a través de un tamiz de menor o igual a 0,06 mm. La muestra obtenida se almacena en frascos de polietileno de 100 mL hasta su análisis. Las muestras molidas pueden almacenarse a temperatura ambiente, pero deben secarse a 65-70 °C por 2 horas y luego enfriarse en desecador, antes realizar el análisis por XRF.

9.9.12. Análisis de datos

9.9.12.1. El contenido de arsénico total en las muestras es calculado automáticamente por el instrumento.

9.9.12.2. El resultado se debe reportar en mg As kg⁻¹ ± I.

9.9.13. Límite de detección

9.9.14. El límite de detección del método (LDM) es de 4,2 mg As kg⁻¹.

SECCION B.- CONTROL DE CALIDAD

Las restantes herramientas empleadas para el control estadístico de la calidad de los resultados (control de la exactitud, control de la precisión, adición de estándar, control de blancos, estándares de verificación, cartas de control, incertidumbre), pueden ser calculadas de acuerdo a lo descrito en la Sección B del “Procedimiento de operación para la determinación de arsénico total en aguas naturales mediante espectrometría de fluorescencia de rayos x de energía dispersiva”.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo entregado por el CONVENIO DE DESEMPEÑO UTA-MINEDUC (2008-2010) y al Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto (CIHDE).

REFERENCIAS

1. Adler I. *X-Ray Emission Spectrography in Geology*, Elsevier, Amsterdam, Holanda, 1966.
2. Jenkins, R., Gould, R., Gedcke, D. *Quantitative X-Ray Spectrometry*, Marcel Dekker Inc., Nueva York, EE.UU. 1981.
3. Jenkins, R., Gould, R., Gedcke, D. *Quantitative X-ray Spectrometry. Practical spectroscopy series*, Volume 20, Marcel Dekker Inc., New York, 1995.
4. Jenkins, R. *X-Ray Fluorescence Spectrometry*, 2nd Edition. Wiley & Sons Inc., New York, 1999.
5. Leyden, D. *Fundamentals of X-ray spectrometry as Applied to Energy Dispersive Techniques*, Tracor Xray Inc., Mountain View, California, 1984.
6. Martín, J., Sanz A. Capítulo: Fluorescencia de Rayos X, en: Blanco, M., Sanz, A., *Espectrometría Atómica Analítica*, Serie Química Analítica, Asociación de Ciencias y Técnicas Ambientales, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, 1990.
7. Mermúdez, J. *Teoría y Práctica de la Espectroscopia de Rayos X*, Ed. Alambra, 1967.
8. Muller, R. *Spectrochemical Analysis by X-Ray Fluorescence*, Adam Hilger Ltd., London, 1972.
9. Shimadzu Corporation, Analytical & Measuring Instruments Division. Instruction manual and software operation for the Energy Dispersion Fluorescence X-ray Spectrometer EDX-900HS (CE) P/N 212-23702-36, Kyoto, Japan, 2003.
10. Tertian, R., Claisse, F. *Principles of Quantitative X-Ray Fluorescence Analysis*, Heyden and Son, London, 1982.
11. Beckhoff, B., Kanngießer, B., Langhoff, N., Wedel, R., Wolff, H. *Handbook of Practical X-Ray Fluorescence Analysis*. Springer, Berlin, 2006.
12. Bertin, E. *Principles and Practice of X-Ray Spectrometry Analysis*, 2nd Ed., Plenum Press, New York, 1975.
13. Criss, J. W., y Birks, L. S., 1968, Calculation methods for fluorescence x-ray spectrometry. Empirical coefficients vs. fundamental parameters: *Anal. Chemistry*, v. 40, págs. 1080-1086.
14. Lucas-Tooth, H.J., Pyne, E.C., 1964. The accurate determination of major constituents by X-ray fluorescence analysis in the presence of large interelement effects. *Advances in X-ray Analysis* 7, pág. 523.
15. De Jongh W.K., X-ray fluorescence analysis applying theoretical matrix corrections. *Stainless steel. X-Ray Spectrometry*, Vol. 2 (4), Date: October 1973, págs. 151-158.
16. American Public Health Association. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20. Edition. 1998.
17. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh411/2.Of1996 Calidad del agua - Muestreo - Parte 2: Guía sobre técnicas de muestreo.
18. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh411/3.Of1996 Calidad del agua - Muestreo - Parte 3: Guía sobre la preservación y manejo de las muestras.
19. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh426/2. 1997. Agua grado reactivo para análisis - Especificaciones - Parte 2: Análisis físico-químico y microbiológico de agua potable, aguas crudas y aguas residuales. Instituto Nacional de Normalización, Santiago, Chile.
20. Superintendencia de Servicios Sanitarios. Determinación de arsénico total, método espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros. *Métodos de Análisis Físico Químicos Agua Potable*, 2007.
21. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh2450.Of1998 Vocabulario de términos fundamentales y generales de metrología.
22. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh410.Of1996. Calidad del agua - Vocabulario.
23. ISO 5725-2. 1994. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 2. Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard

- measurement method. International Organization for Standardization, Ginebra, Suiza.
24. ISO 5725. 1986. Precision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests. International Organization for Standardization, Ginebra, Suiza.
 25. Padilla, R., Markowicz, A., Wegrzynek, D., Chinea, E., Bamford, S., Hernández, D. *Quality management and method Validation in EDXRF analysis X-Ray Spectrom.* 2007; 36: 27–34.
 26. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh-ISO17025.Of2005. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración (2 ed. 2006). General requirements for the competence of testing and calibration.
 27. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh2725.Of2002 Directrices para la aplicación de NCh-ISO 17025 en los laboratorios que realizan ensayos y análisis químicos.
 28. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh2755/1.Of2003 Guía para la cuantificación y expresión de la incertidumbre en el análisis químico - Parte 1: Fundamentos.
 29. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh2755/2.Of2003 Guía para la cuantificación y expresión de la incertidumbre en el análisis químico - Parte 2: Ejemplos.
 30. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh2446.Of1999 Guía para la validación de métodos de ensayo - Principios y conceptos generales.
 31. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh2766.Of2003 ISO 78-2 Química - Estructura y contenido de las normas - Métodos de análisis químico.
 32. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh2297/1.Of1998 Calidad del suelo - Vocabulario - Parte 1: Términos y definiciones relacionados con la protección y contaminación del suelo.
 33. Instituto Nacional de Normalización, INN, Chile. NCh2297/1.Of1998 Calidad del suelo - Vocabulario - Parte 1: Términos y definiciones relacionados con la protección y contaminación del suelo.
 34. ISO 11464:1994(E). Soil quality. Pretreatment of samples for physico-chemical analyses. International Organization for Standardization, Ginebra, Suiza.
 35. Sadzawka R., A. 1990. Métodos de análisis de suelos. Serie La Platina N°16, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago, Chile.
 36. Sadzawka, A., Carrasco, M., Grez, R., Mora, M. Métodos de análisis recomendados para suelos chilenos, Comisión de Normalización y Acreditación, Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo, 2004.
 37. USDA (United States Department of Agriculture). 1996. Soil survey laboratory methods manual. Soil Survey Investigations Report N° 42. Version 3.0. U.S. Department of Agriculture, Washington DC, EE.UU.
 38. Walinga, I., Van Der Lee, J.J., Houba, V.J.G., Van Vark, W. and Novo-Zamsky, I. 1995. Plant analysis manual. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda.
 39. Jones, J.B. Jr. and V.W. Case. Sampling, handling, and analyzing tissue samples. En: Westerman, R.L. (Ed.). Soil testing and plant analysis. Third edition. Number 3 in the Soil Science Society of America Book Series. Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, EE.UU, 389-427. 1990.
 40. Kalra, Y.P. (Ed.) Handbook of reference methods for plant analysis. Soil and Plant Analysis Council, Inc. CRC Press, USA: 300p. 1998.
 41. Sadzawka, A., Carrasco, M., Grez, R., Mora, M. Métodos de análisis de tejidos vegetales, Comisión de Normalización y Acreditación, Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo, 2004.

Capítulo 10

Técnicas electroquímicas para la determinación y especiación de arsénico en aguas

MARIA ADELAIDE ALVES FERREIRA

10.1. TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS

En el análisis voltamétrico se mide la intensidad de corriente que atraviesa un electrodo por aplicación de una diferencia de potencial. Las diferentes técnicas voltamétricas se distinguen, esencialmente, por la diferente forma de variación del potencial aplicado. Se puede decir que la evolución introducida en el tipo de modulación de la forma del potencial ha resultado de una investigación constante dirigida a alcanzar límites de detección cada vez menores, no debiendo olvidarse que las técnicas voltamétricas más avanzadas, con utilización de formas más complejas de modulación de potencial, están asociadas, en general, a límites de detección más bajos [1].

A continuación, se encuentran resumidas las distintas técnicas voltamétricas de impulsos con las respectivas formas de modulación del potencial y límites de detección. Las designaciones de los símbolos allí presentados son las siguientes:

τ : intervalo de tiempo referente al período de un ciclo;

t : tiempo de duración del impulso;

E_i : potencial inicial;

E_c : paso de potencial entre cada ciclo;

A : amplitud del impulso;

t_1 , t_1 y t_2 : instantes en que se efectúa la medición de la intensidad de corriente.

El método voltamétrico de análisis químico se basa en la interpretación de las curvas intensidad de corriente - potencial, i vs. E , resultantes de la electroreducción o electrooxidación de las especies en solución.

10.1.1. Polarografía Normal, NP

En el caso de un electrodo de gota de mercurio (DME), la ecuación analítica que traduce, en determinadas condiciones, la dependencia proporcional de la intensidad de corriente con la concentración de la especie en solución se denomina ecuación de Ilkovic y está descrita por [1]:

$$i_d = 708nD^{1/2}m^{2/3}t^{1/6}C_{sol} \quad (10.1)$$

Los símbolos presentes en la ecuación designan:

i_d : intensidad de corriente límite de difusión (μA)

n : número de electrones transferidos, relativos a la reacción global

D: coeficiente de difusión ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)

m: flujo de masa (mg s^{-1})

t: tiempo de vida de la gota (s)

C_{sol} : concentración de la especie electroactiva en solución (mmol L^{-1})

Los parámetros m y t ($t = t_{\text{máx}}$ tiempo al final del cual la gota es forzada a caer por acción de un martillo mecánico) son ajustados por el analista y se mantienen constantes. Por esta razón, el producto $708nD^{1/2}m^{2/3}t^{1/6}$ en la ecuación de Ilkovic puede ser sustituido por una constante k, tomando la ecuación una forma más simplificada:

$$i_d = kC_{\text{sol}} \quad (10.2)$$

Esta ecuación presupone que el mecanismo de transporte de masa de la especie electroactiva para la superficie ocurre por difusión, siendo el mecanismo de migración minimizado por adición de un electrolito soporte y el de convección a través de la estabilización de la solución (manteniendo la solución sin agitación) durante la fase de aplicación del potencial de redisolución; también se acepta que la difusión es del tipo lineal y que el área de la gota aumenta con el tiempo [2]. El reconocimiento de que la intensidad de corriente de difusión, i_d , aumentaba con el tiempo, siendo máxima para el tiempo de vida de la gota, al mismo tiempo que disminuía la intensidad de corriente de capacitancia, i_c , llevó a innovaciones en el modo de analizar la intensidad de corriente: ésta ha pasado a ser medida inmediatamente antes de la caída de la gota. No obstante, para valores de concentración inferiores alrededor de $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, la i_c es del mismo orden de magnitud de la corriente faradaica i_f , es decir, $i_d \neq i_f$. Dado que la i_d no es directamente proporcional a la concentración de la especie electroactiva en solución, la ecuación de Ilkovic deja de ser válida. Resulta de aquí la limitación de la polarografía normal, NP, dictada por la i_c , a valores de concentración del orden de los $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 10.1).

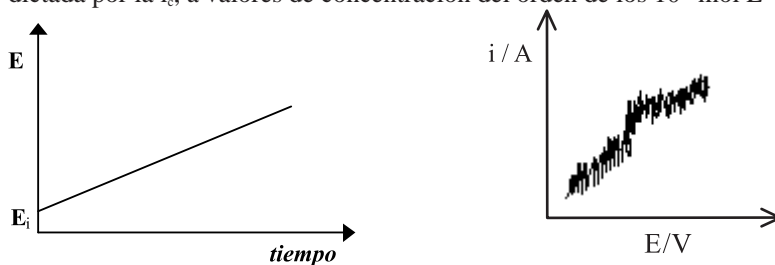


Figura 10.1. Técnica NP: a la izquierda se muestra la forma de la modulación del potencial con el tiempo y a la derecha el correspondiente tipo de voltograma i vs. V .

10.1.2. Voltametría normal de impulsos, NPV

En la voltametría normal de impulsos [2], NPV (Figura 10.2), se mantiene el potencial al valor del E_i durante la mayor parte del tiempo de vida de la gota (para que no haya agotamiento de la especie en la región próxima del electrodo), y un poco antes de la caída de la gota se aumenta bruscamente el potencial hasta un valor E durante un corto tiempo

* $i_{d(\text{máx})} = i_f + i_c = i_f + (i_f + i_c)$, siendo i_f la intensidad de corriente faradaica, i , la intensidad de corriente residual que es formada por una componente faradaica, i_f , debido a la oxidación o reducción de impurezas presentes en solución, y una componente capacitiva dominante, i_c , correspondiente a la carga eléctrica que tiene que ser transferida por el electrodo para que alcance el valor del E impuesto, debido a la carga de la doble capa.

(~ 50 ms). Se procede a la medición de la intensidad de corriente inmediatamente antes de la caída de la gota, al tiempo t_i , y se termina el impulso llevando el potencial al valor E_s , al mismo tiempo que se desaloja la gota. Dado que la electrólisis es insignificante durante la mayor parte del tiempo de vida de la gota, la concentración de la solución se mantiene sensiblemente uniforme hasta la aplicación del impulso, que aumenta la intensidad de la corriente faradaica medida, permitiendo alcanzar límites de detección, para la generalidad de los elementos o especies, del orden de los 10^{-6} hasta 10^{-7} mol L $^{-1}$.

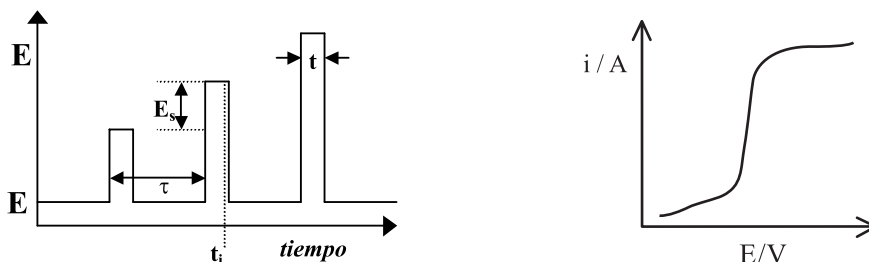


Figura 10.2. Técnica NPV: a la izquierda, forma de la modulación del potencial con el tiempo y a la derecha, el correspondiente tipo de voltograma i vs V .

10.1.3. Voltametría Diferencial de Impulsos, DPV

En la voltametría diferencial de impulsos [2, 3], DPV (Figura 10.3), el potencial inicial aplicado durante la mayor parte del tiempo de vida de la gota aumenta de gota en gota, en pequeños incrementos de amplitud constante, E_s ; un poco antes de la caída de la gota se aplica un impulso de potencial de valor constante durante un tiempo corto. Se miden dos intensidades de corriente en la misma gota: una inmediatamente antes de la aplicación del impulso, al tiempo t_{i1} , y otra inmediatamente antes de la caída de la gota, al tiempo t_{i2} . El registro se efectúa como la diferencia entre estas dos intensidades de corriente, $i_2 - i_1$, en función del potencial, dando origen a voltagramas en forma de “pico”. El aumento de sensibilidad en esta técnica se debe a la disminución de la contribución de la componente de intensidad capacitiva, una vez que se procede a la sustracción de dos valores relativamente próximos, permitiendo alcanzar límites de detección, para la generalidad de los elementos o especies, del orden de los 10^{-7} hasta 10^{-8} mol L $^{-1}$.

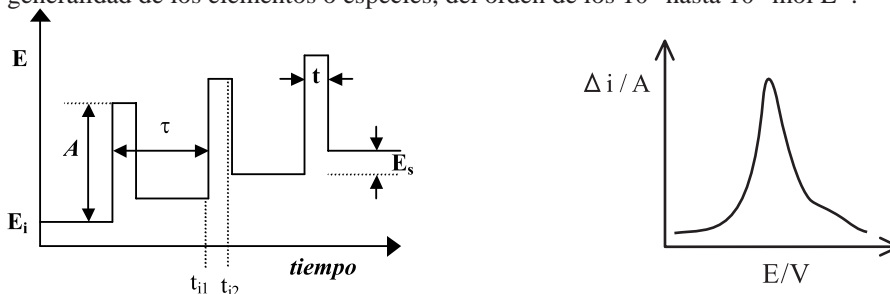


Figura 10.3. Técnica DPV: a la izquierda, la forma de la modulación del potencial con el tiempo y a la derecha, el correspondiente tipo de voltograma $\Delta i = i_2 - i_1$ vs. V .

10.1.4. Voltametría de onda cuadrada, SWV

En la voltametría de onda cuadrada, SWV (Figura 10.4), la corriente es medida durante intervalos de tiempo muy cortos en la parte final de la onda positiva, al tiempo t_{i1} , y en

la parte final de la onda negativa, al tiempo t_{i2} , de cada onda cuadrada. La diferencia entre las intensidades de corriente, i_1-i_2 , se registra en función del potencial en escalón, y el voltograma obtenido es un pico simétrico idéntico al obtenido en la *DPV*. La *SWV*, en relación con la *DPV*, es más rápida y presenta una sensibilidad mayor, ya que la intensidad de corriente global resulta en la suma de dos corrientes: anódica (fase positiva del impulso, oxidación) y catódica (fase negativa del impulso, reducción). Dado que la *SWV* produce voltagramas en tiempos extremadamente cortos, la vuelve adecuada para ser utilizada acoplada a otras técnicas instrumentales como, por ejemplo, a la cromatografía líquida por detección de las especies que van siendo eluidas [4, 5]. La sensibilidad de la *SWV* es alrededor de dos a tres veces superior a de la *DPV* [2, 3].

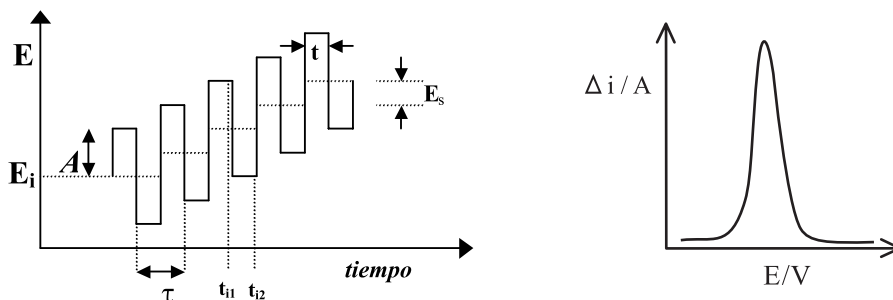


Figura 10.4. Técnica *SWV*: a la izquierda, la forma de la modulación del potencial con el tiempo y a la derecha, el correspondiente tipo de voltograma $\Delta i = i_1 - i_2$ vs V .

10.2. ANÁLISIS VOLTAMÉTRICO CON PRECONCENTRACIÓN

Dado que la potencial toxicidad del arsénico depende en gran parte de sus formas fisicoquímicas, resulta muy importante la determinación individual de estas formas para que se conozca y entienda el papel que desempeñan en las aguas naturales y en la salud humana [6]. Su análisis cuantitativo se vuelve, sin embargo, difícil pues se encuentran en aguas naturales en concentraciones muy próximas a los límites de detección de varias técnicas, como la absorción atómica, la emisión óptica con plasma y la fluorescencia de rayos X. También influyen en el análisis otros factores como el límite de detección, el costo del equipamiento, el tiempo de análisis, la selectividad y la preparación de la muestra. El análisis voltamétrico con una fase de preconcentración surge, así, como una excelente alternativa en términos de técnicas instrumentales para la determinación de cationes metálicos en trazas en estudios ambientales o de control de aguas naturales y de consumo – conjuntamente con una característica extremadamente ventajosa para este tipo de estudios, que es poder discriminar directamente el estado de oxidación en que se encuentran las especies. La fase de preconcentración permite, así, aumentar el límite de detección al mismo tiempo que elimina de sobremano el efecto de la matriz; incluso, después de la fase de preconcentración es posible cambiar la solución de la celda por otra que se considere más conveniente para proceder a la redisolución de la especie en análisis).

La aplicación del paso de preconcentración a las técnicas de *DPV* y *SWV*, mediante procesos electroquímicos o de adsorción, permite alcanzar límites de detección, para los elementos o especies en general, del orden de los 10^{-9} hasta 10^{-11} mol L^{-1} [1-3], pudiendo este paso presentar mecanismos diferentes para las varias técnicas voltamétricas [7, 8].

10.3. COMPARACIÓN DE LÍMITES DE DETECCIÓN PARA DISTINTOS MÉTODOS INSTRUMENTALES EN LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO

La alteración del VMA (Valor Máximo Admisible) de 50 para 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ para el As_{total} requiere la implementación de nuevas metodologías analíticas capaces de alcanzar límites de cuantificación alrededor de 5 hasta 10 veces inferiores al VMA estipulado. Muchas de las técnicas instrumentales que consiguen alcanzar estos límites de detección y cuantificación son demasiado costosas y sofisticadas para la gran mayoría de los laboratorios de análisis de aguas, requiriendo personal con un grado de calificación elevado. El desempeño de un método en relación a la exactitud, rapidez de análisis y costo es, así, determinante en la evaluación de conformidad de un valor VMA para una especie.

Las técnicas voltamétricas surgen como potenciales métodos instrumentales a utilizar dada su elevada sensibilidad analítica junto con equipamientos de bajo costo y de fácil utilización [9-13], que pueden ser adquiridos por la gran mayoría de los laboratorios y que pueden ser utilizados por personal no altamente calificado, con la ventaja de que puede proceder directamente a la especiación iónica del arsénico (As libre, inorgánico) en solución; la desventaja de esta técnica es que es monoelemental y lenta (tiempo de análisis de 10 hasta 15 min por muestra).

Todas estas características son difíciles de encontrar en métodos instrumentales con idénticos LD, descritos en otros capítulos de este libro, como la espectrometría de masa con plasma ICP (ICP-MS) [14, 15] o la espectrometría de absorción atómica con horno de grafito (AAS-GF) [15, 16] acoplados a generador de hidruros (HG) y/o a técnicas cromatográficas [15-18].

En un artículo de revisión [19] se puede consultar una compilación dedicada a las técnicas voltamétricas para la determinación de arsénico. Esta compilación es bastante pormenorizada, con abundante bibliografía, tipo de método voltamétrico, límite de detección, composición del electrolito soporte utilizado, parámetros operativos y especies interferentes.

En los artículos [20] y [21] se presenta un pequeño resumen sobre el avance en técnicas de especiación de arsénico, entre ellas técnicas de cromatografía gaseosa, HPLC, cromatografía iónica, electroforesis capilar y, de forma muy resumida, otras técnicas como difracción y fluorescencia de rayos X y la voltametría. Por otra parte, estas técnicas están descritas en otros capítulos de este libro.

Un aspecto importante en la especiación del arsénico es la preservación de la muestra después de su recolección. Los artículos [22] y [23] discuten y analizan en detalle varios procedimientos de preservación de muestras de agua, que también se pueden encontrar en el Capítulo 2 de este libro.

10.4. ESPECIACIÓN DE ARSÉNICO INORGÁNICO EN AGUAS NATURALES POR SW-CSV CON EL ELECTRODO HMDE

La metodología SW-CSV fue aplicada [10] a tres grandes grupos de aguas naturales de la Región Norte de Portugal, con características especiales debidas a la especiación del arsénico inorgánico: aguas de naciente (lisas, de manantial), aguas minerales sulfúreas y aguas minerales gasocarbónicas. En la Figura 10.5 se presentan los resultados obtenidos, donde se puede observar la concentración relativa de las especies en el agua en particular y, al mismo tiempo, comparar las concentraciones relativas de las especies en los diferentes tipos de aguas.

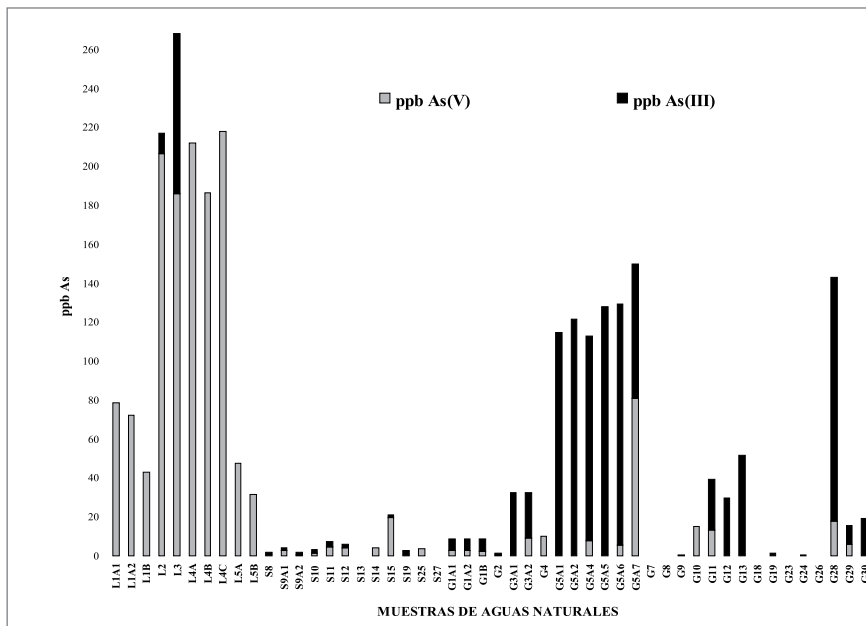


Figura 10.5. Resultados obtenidos para la especiación del arsénico inorgánico en aguas naturales. Aguas de nacimiento lisas: L1-L5; aguas minerales sulfúreas: S8-S27; aguas minerales gasocarbónicas: G1-G32.

A pesar de que el conjunto de aguas analizadas no permite extrapolar conclusiones seguras para todo el universo de aguas naturales, se pueden extraer de la Figura 10.5 ciertas conclusiones, por el menos para el grupo de aguas estudiadas:

- a) las aguas sulfúreas presentan, en general, las concentraciones más bajas de As_{total} ; y presentan casi sistemáticamente ambas formas de arsénico inorgánico, As(III) y As(V), aunque la relación entre sus concentraciones es variable;
- b) las aguas de nacimiento de manantial presentan las concentraciones más elevadas de As(V); presentan valores de As_{total} superiores a de las aguas sulfúreas y del mismo orden de magnitud que el de las aguas gasocarbónicas; presentan casi sistemáticamente, sólo la forma As(V);
- c) las aguas gasocarbónicas presentan los valores más elevados de As(III) y están presentes ambas formas de arsénico inorgánico, con el As(III) predominante sobre el As(V).

La Figura 10.5 demuestra también que la mayoría de las aguas de nacimiento lisas y de las aguas gasocarbónicas aquí estudiadas presentan valores de As_{total} que sobrepasan el VMA (10 ng mL^{-1}). Para el caso de algunas aguas gasocarbónicas, la forma más tóxica, As(III), es por sí sola superior al VMA. Se nota que estos dos tipos de aguas son potenciales fuentes de agua embotelladas para consumo humano. Sin embargo, debe ser notado que las aguas gasocarbónicas se someten antes del embotellamiento a oxigenación para remover iones de hierro, de modo que parte del As(III) es convertido en la forma menos tóxica de As(V), y al mismo tiempo son removidos por coprecipitación con los óxidos de hierro formados, disminuyendo el riesgo para la salud pública. Las aguas de nacimiento lisas, por el general, no se someten a oxigenación forzada pues no presentan una concentración de Fe(II) tan elevada que obligue a su remoción, por lo cual la concentración de As que presentan en el acuífero será la misma que en el agua embotellada, pudiendo tornarse un riesgo para la salud humana.

Las aguas sulfúreas estudiadas no presentan valores superiores al VMR, con excepción de un caso, pero ninguna de ellas alcanza el VMA. Estas aguas no están, por otra parte, destinadas al embotellamiento o al consumo humano. Algunas veces, se usan como bebidas indicadas por prescripción médica durante los tratamientos termales a los que se someten los pacientes, no presentando ningún riesgo para la salud pública.

La predominancia de As(V) parece así estar asociada a las aguas de circulación más superficial (caso de las aguas de naciente), más expuestas a procesos de oxigenación porque, a determinada altura de su curso entran en contacto con aguas de ríos o corrientes de agua de las lluvias, o porque resurgen a la superficie para, posteriormente, volver a infiltrarse en el suelo.

La presencia casi sistemática de As(III) está asociada a las aguas de proveniencia más profunda, las gasocarbónicas y las sulfúreas. El hecho de que las aguas gasocarbónicas presenten los valores más elevados de As(III) se relaciona no solamente con su propia composición química (naturalmente tamponadas debido a la presencia del sistema CO_2 (g)/ HCO_3^- (aq)) como a su origen profundo, estando muchas veces cercanas a accidentes tectónicos, como las fallas geológicas.

10.5. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN PARA LA ESPECIACIÓN DE ARSÉNICO POR EL MÉTODO VOLTAMETRÍA DE REDISOLUCIÓN CATÓDICA CON ONDA CUADRADA (SW-CSV) CON ELECTRODO DE MERCURIO DE GOTA SUSPENDIDA [10-12]

SECCION A. PROCEDIMIENTO

10.5.1. Aplicación

10.5.1.1. Este método es aplicable a la determinación de arsénico inorgánico total, As_{total} , y en el estado de oxidación 3+, As(III), en muestras de aguas naturales superficiales y profundas (naturales de naciente lisas (de manantial), minerales sulfúreas, minerales gasocarbónicas) y de escurrimiento [10-12].

10.5.1.2. Para las aguas minerales gasocarbónicas es necesario proceder previamente a un burbujeo de 30 minutos con argón o nitrógeno para la remoción del CO_2 libre, dado que éste interfiere en el método voltamétrico (las burbujas gaseosas de CO_2 provocan, a veces, caída de la gota de Hg y, por adsorción en su superficie, dificulta el pasaje de la corriente eléctrica).

10.5.1.3. El arsénico 5+, As(V), se obtiene por diferencia entre el total y el As(III).

10.5.1.4. El límite de detección (*LD*) del método para la especie inorgánica As(III) es de $0,13 \text{ ng mL}^{-1}$ y para el As_{total} es de $0,30 \text{ ng mL}^{-1}$.

10.5.1.5. El límite de cuantificación del método para la especie inorgánica As(III) es de $0,44 \text{ ng mL}^{-1}$ y para el As_{total} es de $1,0 \text{ ng mL}^{-1}$.

10.5.1.6. Mediante este método se puede determinar el arsénico(III) en un rango de $0,5 \text{ ng mL}^{-1}$ hasta 20 ng mL^{-1} , y el arsénico total en un rango de $1,2$ hasta 20 ng mL^{-1} ; mayores concentraciones de As(III) o As_{total} podrán ser determinadas por dilución adecuada.

10.5.2. Resumen del método

El método aquí practicado consiste en el análisis voltamétrico de As(III) por redisolución catódica con aplicación de un potencial de onda cuadrada (SW-CSV, *Square Wave Cathodic*

Stripping Voltammetry), sobre el electrodo de gota suspendida de mercurio (HMDE) [10].

Las determinaciones voltamétricas se efectúan con un sistema AUTOLAB, modelo PGSTAT10, de la ECO CHEMIE, con interfase para el electrodo de mercurio IME 663 (Figura 10.6 A) conectada al sistema de electrodos METROHM modelo Stand VA 663 (Figura 10.6 B), conteniendo el MME (Multi Mode Electrodo) de Hg (Figura 10.6 C). El programa utilizado para el control del sistema y adquisición de datos es el GPES, ECO CHEMIE, instalado en una computadora PC con procesador Pentium.

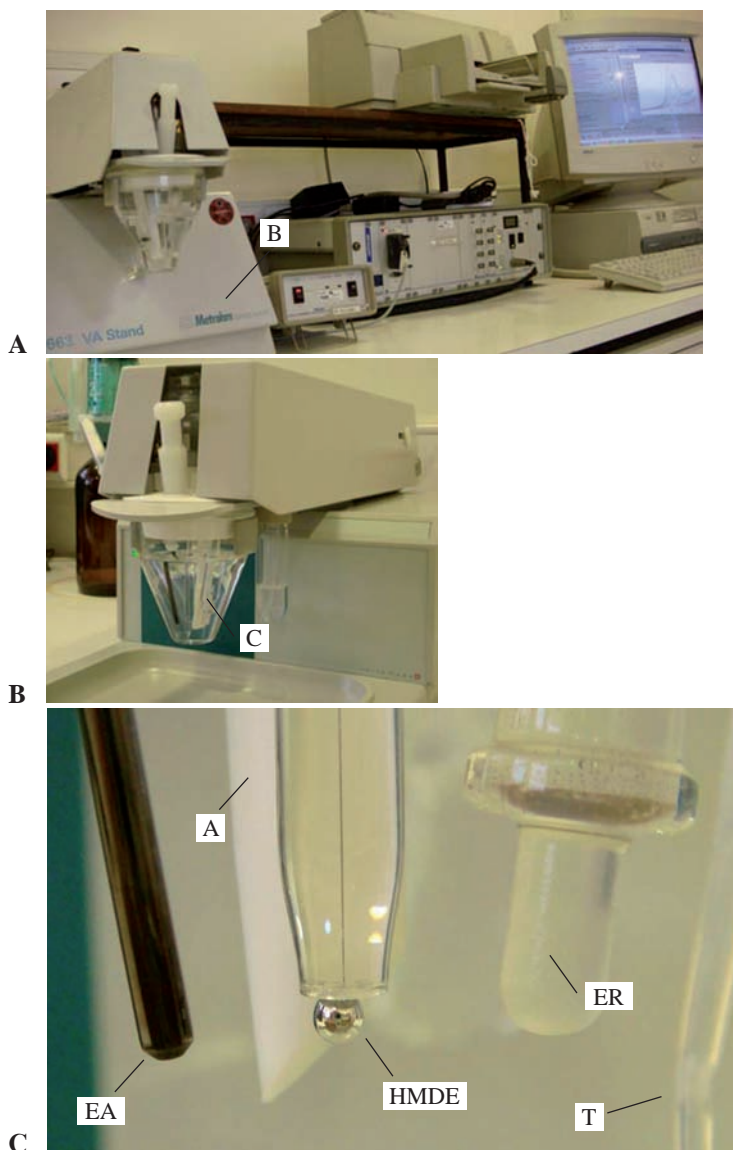


Figura 10.6. (A) Sistema AUTOLAB, modelo PGSTAT10, de ECO CHEMIE, con interfase para el electrodo de mercurio IME 663 unido a (B) sistema de electrodos de METROHM modelo Stand VA 663, que utiliza una celda voltamétrica de vidrio METROHM. (C) Detalle del sistema de electrodos utilizado: EA- electrodo auxiliar de carbono vítreo, ER- electrodo de referencia Ag/AgCl/ KCl 3 M, A- agitador de PTFE, HMDE- electrodo de trabajo de gota de mercurio, T – tubo de ventilación (argón) para remoción de O₂.

Otro sistema voltamétrico utilizado es el modelo 797VA Computrace de la METROHM (Figura 10.7), que usa también el HMDE.

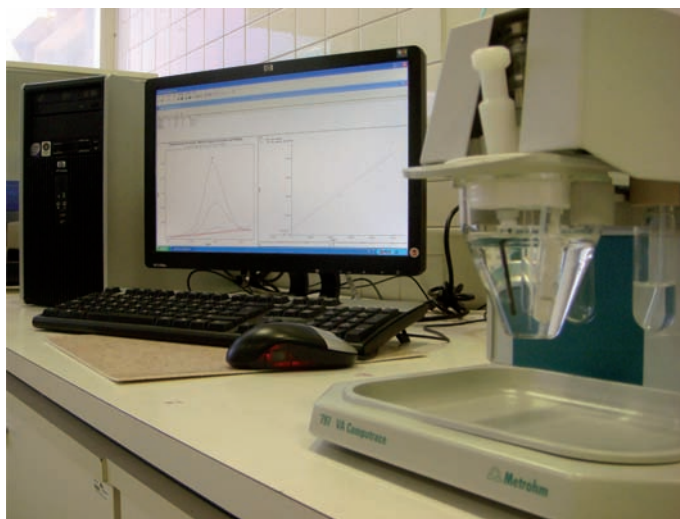
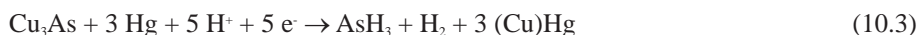


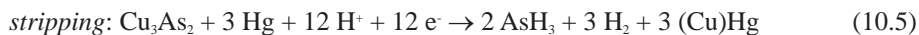
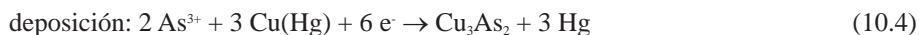
Figura 10.7. Sistema COMPUTRACE, modelo 797VA, de METROHM, con electrodo HMDE.

La reducción de As(III) es efectuada por la aplicación de un potencial negativo de alrededor de $-0,38\text{V}$, durante un determinado período de tiempo (30 seg). Después de este período de deposición, se efectúa el paso de remoción (*stripping*) con un barrido (*sweeping*) catódico de potencial de $-0,60$ hasta $-0,96\text{ V}$. Estas reacciones de electrodo ocurren en presencia del catión Cu(II) y en medio ácido fuerte de HCl , teniendo el Cu(II) así como el anión Cl^- papeles importantes en el aumento de la intensidad y en la mejora de la señal analítica en forma de pico, dando por resultado un aumento en la sensibilidad del método. Los mecanismos de reacción que ocurren en la superficie de la gota de Hg entre el Cu^{2+} y el As(III) , propuestos por algunos autores, son los siguientes:

a) Kotoucek y col.[12] sugieren que se produce una amalgama de Cu en la superficie del electrodo de Hg , reaccionando después el As(III) con esta amalgama para originar arseniuro de cobre, que será reducido durante el paso del *stripping* catódico. Se considera que se forma Cu_3As_2 , pero, de acuerdo con un análisis de rayos X, se verificó la existencia del compuesto intermetálico Cu_3As . Admitiendo que es éste el compuesto formado, el mecanismo de la reacción del electrodo propuesto es la siguiente:



b) Sadana [11] propone el siguiente mecanismo:

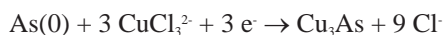


La reducción polarográfica del arsénico, conforme a este autor, ocurre en dos pasos: el primero (señal a $E = -0,47\text{ V}$) corresponde a la reducción del arseniuro a As(0) elemental y el segundo (señal a $E = -0,72\text{ V}$) a la reducción a AsH_3 .

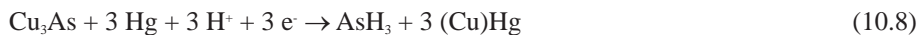
c) Li y Smart [13] proponen que la deposición de arsénico ocurre por reducción de As(III) a As(0) y de Cu(II) a Cu(0), según el mecanismo:



El As(0) y el Cu(0)(Hg) depositados en la superficie del electrodo pueden, entonces, formar compuestos intermetálicos en diferentes relaciones Cu:As (Cu_xAs_y) dependiendo de E_d y de la concentración de H^+ . Puede ser posible, también, que ocurra formación de Cu(I) en el HMDE, que luego se estabiliza por formación de clorocomplejos. Un probable compuesto resultante de la reacción de Cu(I) con As(0) será:



Cuando se efectúa el *sweeping* catódico de potencial, el Cu_3As se reduce a cobre alrededor de -0,76 V y el arsénico genera arsina:



10.5.3. Precauciones de seguridad

Emplear guantes y gafas de protección en la manipulación de soluciones ácidas y básicas. Los ácidos concentrados deben ser manipulados con cuidado y en el interior de una campana extractora de gases, debido a que pueden provocar quemaduras graves y liberan vapores tóxicos.

La medición de volúmenes de soluciones debe ser efectuada con la utilización de un pipeteador manual o de una pipeta automática.

Las manos deben lavarse muy bien después de la manipulación del trióxido de arsénico (As_2O_3) y de soluciones concentradas de As.

Los restos de Hg líquido contenidos en el vaso voltamétrico deben ser guardados en un frasco con tapón, y recubiertos con agua, para su posterior traspaso a una compañía de reciclaje de este tipo de productos.

10.5.4. Precauciones técnicas con las soluciones

10.5.4.1. La solución *stock* estándar certificada de 1 g L^{-1} de As(V), disponible comercialmente, debe usarse dentro de su plazo de validez; después de abierta, tiene 1 año de validez.

10.5.4.2. La solución *stock* estándar certificada de 1 g L^{-1} de As(III) se prepara a partir del patrón primario trióxido de arsénico, As_2O_3 . El As_2O_3 debe ser primero secado por 2 horas en estufa a 105 °C. Preparada la solución, tiene 1 año de validez.

10.5.4.3. Las soluciones estándar de As 50 mg L^{-1} (As(V) y As(III)) se preparan cada tres meses.

10.5.4.4. Las soluciones estándar de As 1 mg L^{-1} (As(V) y As(III)) se preparan cada mes.

10.5.4.5. Las soluciones estándar de As 100 ng mL^{-1} (As(V) y As(III)) y los estándares de calibración se preparan el día del análisis.

10.5.4.6. La solución de Cu(II) 10 g L^{-1} y 35 g L^{-1} se preparan a partir de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y tienen 1 año de validez.

10.5.4.7. El ácido clorhídrico concentrado debe añadirse por medio de un dosificador automático, por las paredes del matraz volumétrico.

10.5.5. Buenas prácticas empleadas en la técnica analítica

10.5.5.1. Verificar que la presión del tubo de argón sea de $1,0 \pm 0,2$ bar.

10.5.5.2. Verificar el buen estado de las mangueras conductoras de flujo.

10.5.5.3. Verificar que la celda voltamétrica y los electrodos queden limpios.

10.5.5.4. Verificar el estado de los electrodos previamente al análisis, corriendo la función del programa analítico *Electrode Test*.

10.5.5.5. Verificar la calidad de los reactivos

- Calidad del ácido clorhídrico, HCl p.a.

Siempre que se abra una nueva botella de HCl p.a. (pro-análisis), se debe preparar una solución con 1,00 mL de HCl en un matraz de 10 mL y leer voltaméricamente por SW-CSV. La línea de base del voltagrama no debe contener ninguna señal analítica. La calidad del HCl no necesita ser SUPRAPUR; la calidad p.a., es suficiente si la línea de base fuese plana.

- Calidad del cloruro de cobre, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Cuando se abra un nuevo frasco de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, para la preparación de las soluciones 10g L^{-1} o 35g L^{-1} de Cu(II), se debe preparar una solución en un matraz de 10 mL con 1,00 mL de HCl y 50 μL de solución 10g L^{-1} de Cu(II) y leer voltaméricamente por SW-CSV. La línea de base del voltagrama no debe contener ninguna señal analítica.

10.5.6. Limpieza del material de trabajo

- Enjuagar todo el material con agua de grifo inmediatamente después de que se ha usado en el análisis.
- El material de vidrio que presenta rajaduras debe ser depositado en el recipiente respectivo para reciclado.
- Remover etiquetas y grabados con alcohol y algodón.
- Enjuagar abundantemente con agua de grifo.
- Lavar todo el material con detergente especial Extrán Merck o similar con escobilla de tamaño y forma adecuada.
- Enjuagar abundantemente con agua de grifo.
- Colocar todo el material de vidrio (balones, pipetas, frascos) en ácido nítrico 1:4 durante 4 horas como mínimo.
- Enjuagar abundantemente con agua de grifo.
- Enjuagar cuatro, o las veces que fueren necesarias, con agua desionizada hasta que la conductividad del agua de lavado sea igual a la del agua desionizada.
- Secar en estufa a $60\text{ }^\circ\text{C}$.

10.5.7. Interferencias

Las interferencias que pueden ocurrir en este método son las siguientes:

- Interferencias químicas provenientes de la superposición total o parcial de áreas de picos referentes a dos o más elementos que se redisuelven a un potencial próximo del elemento a analizar, o que coexisten en concentraciones muy altas con relación a la concentración de la especie en análisis. Existen interferencias de Bi^{3+} , Cd^{2+} , Fe^{3+} , Sn^{4+} , Zn^{2+} , NO_2^- y NO_3^- pero en concentraciones mayores a las esperadas en aguas naturales

y minerales. Se^{4+} , Sb^{3+} y S^{2-} , en concentraciones que pueden ocurrir en aguas naturales y minerales provocan fuertes interferencias. Se^{4+} en concentraciones de 1 ng mL^{-1} disminuye la corriente del pico del As(III); Sb^{3+} en concentraciones superiores a 3 ng mL^{-1} provoca la desaparición del pico de As(III); S^{2-} en concentraciones de 2 mg L^{-1} disminuye la corriente del pico de As(III) y origina la aparición de dos nuevos picos, uno a la izquierda y el otro a la derecha del pico del As(III). El S^{2-} es problema solamente en el caso de las aguas sulfúreas, pero como la acidez del medio en la celda voltamétrica es suficiente para convertir S^{2-} en H_2S gaseoso, que será removido de la solución durante la ventilación con argón, la interferencia puede ser reducida.

- Interferencias físicas de matriz resultantes de diferentes características físicas entre los estándares de calibración y las muestras (viscosidad y tensión superficial, presencia de sustancias coloidales).

- Interferencias de matriz provocadas por diferencias acentuadas en la constitución de las soluciones estándar y muestras (acidez, fuerza iónica, presencia de sustancias orgánicas).

10.5.8. Instrumental / materiales

10.5.8.1. Potenciostatos/galvanostatos: a) Eco Chemie Autolab PGSTAT10 con sistema de electrodos Metrohm Stand VA 663 e interfase IME 663; b) 797 VA Computrace Metrohm.

10.5.8.2. Electrodo multimodo de trabajo de mercurio de gota suspendida, Metrohm MME 6.1246.020.

10.5.8.3. Electrodo auxiliar de carbono vítreo Metrohm 6.1247.000.

10.5.8.4. Electrodo de referencia Metrohm de Ag/AgCl de dupla unión 6.0728.000.

10.5.8.5. Balanza analítica Mettler AE160.

10.5.8.6. Pipetas y matraces de vidrio volumétricos de clase AH.

10.5.8.7. Material de vidrio común de laboratorio.

10.5.9. Reactivos

10.5.9.1. Agua ultrapura obtenida con el sistema Millipore ELIX10 con conductividad $< 0,07 \mu\text{S cm}^{-1}$.

10.5.9.2. Solución *stock* de As(V) 1 g L^{-1} pronta a utilizar (estándar certificado) MERCK, REAGECON o ALFA AESAR.

10.5.9.3. Solución estándar 50 mg L^{-1} de As(V). En un matraz volumétrico de 100 mL, pipetear 5 mL de solución *stock* 1 g L^{-1} de As(V) y adicionar 1 mL de HCl concentrado; ajustar el volumen con agua desionizada y agitar bien. Trasvasar a un frasco de plástico o vidrio opaco de 100 mL con la identificación de la solución y respectiva concentración; colocar una etiqueta con la fecha de preparación y el nombre del operador. Esta solución tiene validez de 3 meses.

10.5.9.4. Solución estándar 1 mg L^{-1} de As(V). En un matraz volumétrico de 100 mL, pipetear 2 mL de solución estándar 50 mg L^{-1} de As(V) y adicionar 1 mL de HCl concentrado; ajustar el volumen con agua desionizada y agitar bien. Trasvasar a un frasco de plástico o vidrio opaco de 100 mL con la identificación de la solución y respectiva concentración; colocar una etiqueta con la fecha de preparación y el nombre del operador. Esta solución tiene validez de 1 mes y debe ser guardada en un armario, protegida de la luz solar.

10.5.9.5. Solución estándar $50 \mu\text{g L}^{-1}$ As(V). En un matraz volumétrico de 100 mL, pipetear 5 mL de solución estándar 1 mg L^{-1} de As(V) y adicionar 1 mL de HCl concentrado;

ajustar el volumen con agua desionizada y agitar bien. Esta solución debe ser preparada el día del análisis.

10.5.9.6. Trióxido de arsénico As_2O_3 , grado pro-análisis, Merck o Riedel.

10.5.9.7. Solución *stock* As(III) 1 g L^{-1} . Pesar en la balanza analítica, en un frasco de vidrio de 50 mL, 0,1320 g de As_2O_3 . Adicionar 1 mL de solución 20% (m/v) de NaOH y, con ayuda de una varilla de vidrio, disolver rápidamente el As_2O_3 . Luego que la solución se vea totalmente límpida, adicionar rápidamente un poco de agua desionizada y, con cuidado, 2 mL de HCl concentrado, agitando con la varilla. Trasvasar de modo cuantitativo la solución a un matraz volumétrico de 100 mL y ajustar el volumen con agua desionizada y agitar bien. Trasvasar a un frasco de plástico o vidrio opaco de 100 mL con la identificación de la solución y respectiva concentración; colocar una etiqueta con la fecha de preparación y el nombre del operador. Esta solución tiene validez de 1 año.

10.5.9.8. Solución estándar 50 mg L^{-1} As(III). En un matraz volumétrico de 100 mL, pipetear 5 mL de solución *stock* 1 g L^{-1} As(III) y adicionar 1 mL de HCl concentrado; ajustar el volumen con agua desionizada y agitar bien. Trasvasar a un frasco de plástico o vidrio opaco de 100 mL con la identificación de la solución y respectiva concentración; colocar una etiqueta con la fecha de preparación y el nombre del operador. Esta solución tiene validez de 3 meses.

10.5.9.9. Solución estándar 1 mg L^{-1} As(III). En un matraz volumétrico de 100 mL, pipetear 2 mL de solución estándar 50 mg L^{-1} As(III) y adicionar 1 mL de HCl concentrado; ajustar el volumen con agua desionizada y agitar bien. Trasvasar a un frasco de plástico o vidrio opaco de 100 mL con la identificación de la solución y respectiva concentración; colocar una etiqueta con la fecha de preparación y el nombre del operador. Esta solución tiene validez de 1 mes y debe ser guardada en un armario, protegida de la luz solar.

10.5.9.10. Solución estándar $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). En un matraz volumétrico de 100 mL, pipetear 5 mL de solución estándar 1 mg L^{-1} de As(III) y adicionar 1 mL de HCl concentrado; ajustar el volumen con agua desionizada y agitar bien. Esta solución debe ser preparada el día del análisis.

10.5.9.11. Solución de Referencia Interna, SRI: $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) + $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) ($20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ As_{total}). En un matraz volumétrico de 100 mL, pipetear 1 mL de solución estándar 1 mg L^{-1} de As(III), 1 mL de solución estándar 1 mg L^{-1} de As(V), 1 mL de HCl y ajustar el volumen con un **agua natural comercial** (embotellada) elegida como matriz de la SRI. Esta solución debe ser preparada el día del análisis.

10.5.9.12. Cloruro de cobre (II) dihidratado, grado pro-análisis, Merck o Riedel.

10.5.9.13. Solución 10 g L^{-1} de Cu(II). En un frasco de 80 mL pesar 1,3415 g de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, adicionar unos 30 mL de agua desionizada y 0,50 mL de HCl concentrado. Disolver completamente la sal con ayuda de una varilla y ajustar el volumen a 50 mL. Trasvasar a un frasco de plástico de 50 mL, con la identificación de la solución y respectiva concentración; colocar una etiqueta con la fecha de preparación y el nombre del operador. Esta solución tiene validez de 1 año.

10.5.9.14. Solución 35 g L^{-1} de Cu(II). En un frasco de 80 mL pesar 4,6940 g de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, adicionar alrededor de 30 mL de agua desionizada y 0,50 mL de HCl concentrado. Disolver completamente la sal con ayuda de una varilla y ajustar el volumen a 50 mL. Trasvasar a un frasco de plástico de 50 mL, con la identificación de la solución y respectiva concentración; colocar una etiqueta con la fecha de preparación y el nombre del operador. Esta solución tiene validez de 1 año.

10.5.9.15. Hidróxido de sodio, NaOH, en tabletas, grado pro-análisis, Merck o Riedel.

10.5.9.16. Solución 20% (m/v) de NaOH. En un frasco de 150 mL pesar 20 g de NaOH

y adicionar agua desionizada hasta 100 mL. Disolver completamente la sal con ayuda de una varilla y trasvasar a un frasco de plástico de 100 mL, con la identificación de la solución y respectiva concentración; colocar una etiqueta con la fecha de preparación y el nombre del operador. Esta solución tiene validez de 6 meses.

10.5.9.17. Tiosulfato de sodio, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, ampolla 0,1mol, Normex Carlo Erba o Fixanal Riedel.

10.5.9.18. Solución 0.40 mol/L de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Trasladar de modo cuantitativo el contenido de la ampolla con 0,1mol de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, a un matraz volumétrico de 250 mL. Ajustar el volumen con agua desionizada, agitar y transferir a un frasco de plástico de 250 mL, con la identificación de la solución y respectiva concentración; colocar una etiqueta con la fecha de preparación y el nombre del operador. Esta solución tiene validez de 4 meses.

10.5.9.19. Ácido clorhídrico concentrado (HCl), 37% (p/p), p.a., Panreac, Riedel, Merck o similar.

10.5.9.20. Argón comprimido, Alphagaz Tipo 1 (grado pureza > 99,9994%), provisto por la compañía Air-Liquide.

10.5.10. Verificación del equipo

10.5.10.1. En esta descripción se asume que el equipo ya se encuentra debidamente montado, especialmente en lo que respecta a líneas de gases y conexiones eléctricas y que deberán ser consultados los manuales de operación del *Stand* de electrodos VA663/Metrohm [24], del AUTOLAB PGTAT10/ Eco Chimie [25] y del 797VA Computrace/Metrohm [26, 27].

10.5.10.2. Abrir la llave del tubo de argón y verificar si el manómetro registra 1 bar.

10.5.10.3. Encender el potencióstato/galvanostato, la impresora y la computadora.

10.5.10.4. Ingresar en el programa GPES en el caso del equipo AUTOLAB y, después, encender la interfase IME663; en el caso del equipo Computrace, ingresar en el programa 797VA Computrace.

10.5.10.5. Verificar las condiciones instrumentales para la determinación de arsénico (As(III) o As_{total}), ingresando en el respectivo archivo (consultar el manual de *software* del respectivo equipo) (ver Tabla 10.1).

10.5.10.6. Lavar la celda voltamétrica y los electrodos con agua desionizada.

10.5.10.7. Preparar un blanco reactivo y probar los electrodos haciendo correr la función del programa analítico *Electrode Test*; si el *test* es bueno, avanzar con el análisis.

Tabla 10.1. Parámetros instrumentales de análisis para As(III) y As_{total} por SW-CSV

	As(III)		As _{total}	
Pretreatment				
Purge time (s):	600		600	
Contitioning potential (V):	0		0	
Duration (s):	0		0	
Deposition potential (V):	-0.38	(puede variar entre -0.34 hasta -0.45)	-0.43	(puede variar entre -0.40 hasta -0.46)
Duration (s):	30		180	(120 – 300)
Equilibration time (s):	8		8	
Measurement				
Cell off after measurement:	<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	
Frequency (8 – 2000Hz):	200		300	
Potentials				
Initial potential (V):	-0.58		-0.50	
End potential (V):	-0.96		-0.90	
Step potential (V):	0.002		0.002	
Amplitude (V):	0.040		0.050	
Standby potential (V):	0		0	

10.5.11. Calibración del método

Calibración analítica por el método de la recta de calibración para determinación de As(III).

10.5.11.1. El día del análisis preparar las soluciones estándar de As(III) para la curva de calibración, en medio 1,0 mol L⁻¹ HCl y 50 mg L⁻¹ Cu(II). En matraces volumétricos de 10 mL pipetear los siguientes volúmenes (Tabla 10.2) de la solución estándar 50 µg L⁻¹ de As(III).

10.5.11.2. Inmediatamente y en campana extractora de gases, añadir 1,0 mL de HCl concentrado y 50 µL de la solución 10 g L⁻¹ de Cu(II).

10.5.11.3. Llevar a volumen con agua desionizada y agitar bien. Continuar según se indica en el ítem 10.5.13 (curva de calibración de As(III)).

Tabla 10.2. Preparación de la curva de calibración y del estándar de control CTRL para la determinación de As(III).

Estándar	$V_{50 \mu\text{g mL}^{-1} \text{As(III)}}$	$\mu\text{g L}^{-1} \text{As(III)}$
S0	0	0
S1	50 μL	0,25
S2	100 μL	0,50
S3	0,20 mL	1,0
S4	0,50 mL	2,5
S5	1,00 mL	5,0
S6	2,00 mL	10
S7	4,00 mL	20
Control	$V_{50 \mu\text{g mL}^{-1} \text{As(III)}}$	$\mu\text{g L}^{-1} \text{As(III)}$
CTRL 1	0,20 mL	1,0
CTRL 2	1,0 mL	5,0

Nota: las soluciones de control, CTRL, deben ser preparadas a partir de una solución *stock* 1 g L^{-1} de As(III) diferente de la empleada en la preparación de las soluciones para calibración.

Calibración analítica por el método de la recta de calibración para determinación de As_{total}

10.5.11.4. El día del análisis, preparar las soluciones estándar de As(V) para la curva de calibración, en medio $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{HCl}$, $3,2 \text{ mmol L}^{-1} \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y 350 mg L^{-1} de Cu(II). En frascos volumétricos de 10 mL, pipetear los siguientes volúmenes (Tabla 10.3) de la solución estándar de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V).

Tabla 10.3. Preparación de la curva de calibración y del estándar de control CTRL para la determinación de As_{total}

Estándar	$V_{50 \mu\text{g mL}^{-1} \text{As(V)}}$	$\mu\text{g L}^{-1} \text{As}_{\text{total}}$
S0	0	0
S1	100 μL	0,50
S2	0,20 mL	1,0
S3	0,50 mL	2,5
S4	1,00 mL	5,0
S5	2,00 mL	10
S6	4,00 mL	20
Control	$V_{50 \mu\text{g mL}^{-1} \text{As}_{\text{total}}}$	$\mu\text{g L}^{-1} \text{As}_{\text{total}}$
CTRL 1	0,50 mL	2,5
CTRL 2	2,00 mL	10

Nota: las soluciones de control, CTRL, deben ser preparadas a partir de una solución *stock* 1 g L^{-1} As(V) diferente de la empleada en la preparación de las soluciones para calibración.

10.5.11.5. Inmediatamente, y en campana extractora de gases, añadir, en este orden, 1,0 mL de HCl concentrado, 80 μL de solución $0,40 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y 100 μL de solución 35 g L^{-1} de Cu(II), agitando siempre un poco entre la adición de cada reactivo.

10.5.11.6. Llevar a volumen con agua desionizada y agitar bien. Continuar según se indica en el ítem 10.5.13 (curva de calibración para As_{total}).

10.5.12. Muestreo y preservación

10.5.12.1. Debido a la elevada sensibilidad del método analítico, los frascos de muestras y todo el material restante, así como los reactivos, deben estar libres de arsénico.

10.5.12.2. En la recolección, la muestra de agua natural debe filtrarse a través de una membrana con porosidad de 0,20 μm (acetato de celulosa o PET) en botellas de vidrio oscuro e inmediatamente acidificada con HCl 1% – se añade 1,0 mL de HCl concentrado por cada 100 mL de muestra. Las soluciones se guardan en un armario, fuera de la acción de la luz solar, y se mantienen a temperatura ambiente del laboratorio.

10.5.12.3. Los análisis de As(III) deben ser efectuados primero y el más rápido posible, de preferencia no excediendo los dos días después de su recolección.

10.5.12.4. Los análisis de As_{total} pueden ser efectuados hasta un mes después de la colecta.

10.5.13. Procedimiento de análisis del As(III)

Método de la curva de calibración para As(III)

10.5.13.1. Ingresar a la ventana de los directorios y clicar en “ C:\”, después clicar en las carpetas, ya creadas, “arsénico” y “as3” y, por fin, crear la carpeta en la cual se grabarán los resultados, por ejemplo, “12feb08”, la fecha del análisis en curso.

10.5.13.2. Ingresar a la ventana del programa analítico GPES y abrir el *Method File* ya creado “As3Cu50” (ver Tabla 10.1 para verificar las condiciones instrumentales).

10.5.13.3. Enjuagar la celda voltamétrica y los electrodos con agua desionizada y secar con papel absorbente.

10.5.13.4. Trasvasar el contenido del matraz del estándar S0 (Tabla 10.2) a la celda voltamétrica y comenzar el análisis cliqueando en *Start* en la ventana del programa GPES.

10.5.13.5. Terminado el ensayo, con la presentación del voltagrama en la pantalla de la computadora, registrar el resultado cliqueando en *File*, “Save fecha As...”. En la ventana de los directorios, clicar en “ C:\” y en las carpetas, ya creadas, “arsénico” y “as3” y, finalmente, en la carpeta con la fecha del análisis inicialmente creada (p. ej. “12feb08”).

10.5.13.6. Escribir el nombre del archivo, por ejemplo, “Oppb.oew” (no puede tener más que 8 caracteres y tiene que tener la extensión “.oew”) y clicar en *Enter*.

10.5.13.7. Calcular la intensidad del pico, I_p : en la ventana del voltagrama “Fecha presentation”, clicar en *Analysis* y *Peak Search*. En la ventana del *Peak Search* clicar en *Options*>> y seleccionar las siguientes condiciones en la ventana *Peak Search Options* (ver Tabla 10.4):

Tabla 10.4. Condiciones instrumentales para el cálculo de la intensidad del pico voltamétrico, I_p .

Search	Peak	Baseline
<input checked="" type="radio"/> Free cursor	<input checked="" type="radio"/> Whole peak	<input checked="" type="radio"/> Linear baseline
Minimum		
Peak width: 0.005		
Peak height: 1.0E-20		

10.5.13.8. Después de seleccionar las condiciones para el cálculo de la I_p , clicar en *Close* y, nuevamente en la ventana *Peak Search*, clicar en *Search*; se abre la nueva ventana *Markers*.

10.5.13.9. Con el cursor, definir en la línea de base del voltagrama los dos puntos

mínimos del pico (uno a la derecha y el otro a la izquierda del pico) y clicar en *OK*. La intensidad del pico está dada por la altura de la línea vertical definida por el punto máximo del pico y el punto en que intercepta la recta definida por los dos puntos de la línea de base.

10.5.13.10. El resultado se muestra en la nueva ventana *Peak Search Results*; clicar en *OK* en esta ventana. En la ventana *Peak Search* clicar en *Close*. Los resultados quedan archivados (pero no registrados) en el *Buffer* de la ventana *Analysis Results*.

10.5.13.11. Repetir el procedimiento del punto 10.5.13.3 al 10.5.13.10, hasta la última solución estándar.

10.5.13.12. Para observar los resultados en cualquier momento del ensayo, clicar en *Window* en la barra horizontal del *GPES Manager* y después en *Analysis Results*. Para cerrar la ventana *Analysis Results* clicar en el botón “—“ de la esquina superior izquierda de la ventana y después en *Close*.

10.5.13.13. Para imprimir los resultados, clicar en el icono de la “impresora” que se encuentra en la barra horizontal del *GPES Manager*. En la ventana *Print select*, seleccionar “*Window*” y en la ventana *Print Window* seleccionar *Analysis Results*. Clicar en *OK* para imprimir.

10.5.13.14. En una hoja de cálculo EXCEL, introducir los datos de la línea de calibración y determinar sus parámetros, empleando las funciones matemáticas del EXCEL. La recta deberá tener, como mínimo, un coeficiente de correlación de 0,99. En caso de no suceder esto, se debe verificar cuál es el estándar que queda fuera de la correlación, preparar una nueva solución y leer voltamétricamente.

Lectura de las muestras de As(III) por el método de la curva de calibración

10.5.13.15. En un matraz volumétrico de 10 mL, pipetear el volumen adecuado de la muestra de agua a analizar (se podrá comenzar con un volumen de 5 mL de muestra).

10.5.13.16. Adicionar al matraz conteniendo la muestra 1,0 mL de HCl concentrado, 50 μL de solución 10 gL^{-1} de Cu(II). Ajustar el volumen con agua desionizada y agitar bien.

10.5.13.17. Seguir el procedimiento descrito del punto 10.5.13.3 hasta el punto 10.5.13.10 (ahora con muestra y no estándar).

10.5.13.18. Dependiendo del resultado obtenido, verificar si es necesario repetir la lectura cambiando el volumen de la toma.

10.5.13.19. De 10 en 10 muestras, efectuar ensayos de duplicados (ver Sección B, punto 10.5.20).

10.5.13.20. De 10 en 10 muestras y intercalando con los ensayos de duplicados, efectuar ensayos de recuperación (ver Sección B, punto 10.5.20).

10.5.13.21. De 10 en 10 muestras leer las SRI (ver Sección B, punto 10.5.18.2) y el CTRL (ver Sección B, punto 10.5.23).

10.5.13.22. Terminado el análisis, cerrar el equipo.

10.5.13.23. Cerrar todas las ventanas en la computadora.

10.5.13.24. Cerrar los botones del *Power* de todos los equipos (computadora, impresora, AUTOLAB, Interfase IME663).

10.5.13.25. Cerrar la llave del tubo de argón.

10.5.14. Lectura de las muestras de As(III) por el método de la adición sucesiva de estándar

10.5.14.1. Cuando exista interferencia de matriz, debe ser aplicado el método de la adición sucesiva de estándar

10.5.14.2. Preparar tres soluciones de muestra con tomas de volúmenes iguales y en matraces de 10 mL.

10.5.14.3. Si la concentración de la muestra es inferior a $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III), no adicionar solución estándar a una de las muestras; a la segunda muestra adicionarle 0,10 mL y a la tercera 0,20 mL de solución estándar $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III).

10.5.14.4. Si la concentración de la muestra es superior a $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III), no adicionar solución estándar a una de las muestras; a la segunda muestra adicionarle 1 mL y a la tercera 2 mL de solución estándar $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III).

10.5.14.5. Leer cada una de las soluciones voltamétricamente según el procedimiento descrito del punto 10.5.13.3 hasta el punto 10.5.13.9 (ahora con muestra y no estándar).

10.5.14.6. Calcular la concentración de la muestra, C , a partir de la ecuación $C = i/d$, siendo i la ordenada al origen y d la pendiente.

10.5.15. Procedimiento de análisis del As_{total}

Método de la curva de calibración para As_{total}

10.5.15.1. Ingresar en la ventana de los directorios y clicar en “C:\”; después clicar en las carpetas, ya creadas, “arsénico” y “astotal” y, por fin, crear la carpeta en la que se grabarán los resultados, por ejemplo, “12feb08”, la fecha del análisis en curso.

10.5.15.2. Ingresar a la ventana del programa analítico GPES y abrir el *Method File* ya creado “AsTCu350” (ver Tabla 10.1 para verificar las condiciones instrumentales).

10.5.15.3. Enjuagar la celda voltamétrica y los electrodos con agua desionizada y secar con papel absorbente.

10.5.15.4. Trasvasar el contenido del frasco del estándar S0 (Tabla 10.3) a la celda voltamétrica y comenzar el análisis clicando en *Start* en la ventana del programa GPES.

10.5.15.5. Terminado el ensayo, con la presentación del voltagrama en la pantalla de la computadora, registrar el resultado clicando en *File, Save data As...* En la ventana de los directorios clicar en “C:\” y en las carpetas, ya creadas, “arsénico” y “astotal” y, finalmente, en la carpeta con la fecha del análisis inicialmente creada (p. ej. “12feb08”).

10.5.15.6. Continuar según se indica en el ítem 10.5.13.1.3 hasta el 10.5.13.1.14.

Lectura de las muestras de As_{total} por el método de la curva de calibración

10.5.15.7. En un matraz volumétrico de 10 mL, pipetear el volumen adecuado de la muestra de agua a analizar (se podrá comenzar con un volumen de 5 mL de muestra).

10.5.15.8. Adicionar, en este orden, 1,0 mL de HCl concentrado, 80 μL de solución $0,40 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y 100 μL de solución 35 g L^{-1} de Cu(II), agitando siempre un poco entre la adición de cada reactivo. Ajustar el volumen con agua desionizada y agitar bien.

10.5.15.9. Seguir el procedimiento descrito desde el punto 10.5.13.3 hasta el 10.5.13.10 (ahora con muestra y no estándar).

10.5.15.10. Lectura de las muestras de As_{total} por el método de la adición sucesiva de estándar.

a) Si la concentración de la muestra es inferior a $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As_{total} , no adicionar solución estándar a una de las muestras; a la segunda muestra adicionarle 0,40 mL y a la tercera 0,80 mL de solución estándar $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V).

b) Si la concentración de la muestra es superior a $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As_{total} , no adicionar solución estándar a una de las muestras; a la segunda muestra adicionarle 1 mL y a la tercera 2 mL de solución estándar $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V).

10.5.15.11. Leer voltamétricamente las soluciones según el procedimiento descrito desde el punto 10.5.14.3 hasta el 10.5.14.8 (ahora con muestra y no estándar).

10.5.15.12. Calcular la concentración de la muestra, C , a partir de la ecuación $C = i/d$, siendo i la ordenada al origen y d la pendiente.

10.5.16. Análisis de datos

10.5.16.1. Concentración de As(III) o As_{total} en la muestra por el método de la recta de calibración

La concentración final por el método de la recta de calibración $I_p = i + dxC_p$ se calcula de acuerdo a la siguiente expresión:

$$|As|_{ppb} = (V/V_a) \times [(I_p - i)/d] \quad (10.9)$$

donde:

$|As|_{ppb}$: concentración final de arsénico presente en la muestra

V : volumen total de la solución muestra, en este caso 10 mL

V_a : volumen de la toma utilizada en la preparación de la solución muestra

I_p : intensidad de la señal analítica (en forma de pico)

i : ordenada al origen de la recta de calibración

d : pendiente de la recta de calibración

C_p : concentración de los estándares de As

10.5.16.2. Concentración de As(III) o As_{total} en la muestra por el método de la adición sucesiva de estándar. La concentración final, por el método de la adición estándar se calcula a partir de la ordenada al origen de la recta $I_p = i + d_x C_p$ en el eje x para I_p del estándar igual a cero:

$$|As|_{ppb} = (V/V_a) \times [i/d] \quad (10.10)$$

10.5.16.3. Concentración de As(V) en la muestra. La concentración de As(V) se calcula por diferencia entre las concentraciones de As_{total} y As(III):

$$|As(V)|_{ppb} = |As_{total}|_{ppb} - |As(III)|_{ppb} \quad (10.11)$$

10.5.17. Registro

Se generan los siguientes registros:

10.5.17.1. Cuaderno del operador: en el cuaderno del operador se registra la identificación de las muestras, fecha de la recolección, fecha de inicio del análisis, alcuota tomada, volumen final al que se lleva, control de calidad para análisis y preparación de reactivos.

10.5.17.2. Cuaderno de mantenimiento de los equipos: este cuaderno se encuentra junto al respectivo equipo y en él se archivan los manuales del equipo, la ficha de archivos, las fichas de manutención externa e interna.

10.5.17.3. Cuaderno de registro de no conformidades: este cuaderno se encuentra en el gabinete del responsable y en él se archivan la fichas de no conformidades, con el nombre del responsable, la identificación del problema, causas del problema y acciones correctivas o preventivas del mismo.

10.5.17.4. Cuaderno de resultados analíticos: este cuaderno se encuentra en el gabinete del responsable y en él se archivan los resultados impresos del equipo y los resultados finales (que podrán ser calculados por el programa del equipo o por el analista).

10.5.17.5. Cuaderno de boletín de análisis: este cuaderno se encuentra en el gabinete del responsable y en él se archivan los boletines de análisis emitidos por los clientes.

10.5.18. Límite de detección y de cuantificación

Para una ecuación de regresión recta:

$$I_p(A) = i(A) + d(A/ppb) \times C_A \text{ (ppb)} \quad (10.12)$$

el y-límite de detección (y_{LD}) se calcula como el valor promedio (en un mínimo de 10 ensayos) de la ordenada al origen (i) más tres veces la desviación estándar (S_i) asociada a este promedio, y el y-límite de cuantificación (y_{LQ}) como el valor promedio (en un mínimo de 10 ensayos) de la ordenada al origen más diez veces la desviación estándar asociada a este promedio [28]:

$$y_{LD}(A) = i + 3 S_i \quad (10.13)$$

$$y_{LQ}(A) = i + 10 S_i \quad (10.14)$$

Como los valores calculados por las dos ecuaciones anteriores se obtienen en unidades eléctricas, amperios (A), es necesario convertirlos a unidades de concentración (ppb o $\mu\text{g L}^{-1}$), introduciendo esos valores en la ecuación de regresión para obtener los verdaderos valores de LD y LQ.

$$LD(\text{ppb}) = (y_{LD} - i)/d = 3 S_i/d \quad (10.15)$$

$$LQ(\text{ppb}) = (y_{LQ} - i)/d = 10 S_i/d \quad (10.16)$$

El valor “inferior a...” insertado en los boletines de análisis se determina a partir de la siguiente expresión:

$$QAMD = f \times LQ = f \times 10 \times S_i/d \quad (10.17)$$

donde:

I_p : intensidad de la señal de pico (unidades eléctricas, amperios, A)

C_A : concentración de la muestra

i : valor promedio de la ordenada en la origen para un número mínimo de 10 rectas

S_i : desviación estándar asociada a la ordenada en el origen promedio de las rectas

d : pendiente promedio de las rectas

f : factor de dilución, que es igual a (V/V_a) o $(V/V_a) \times (V/V_{pip})$ si se efectúa una segunda dilución

LD y LQ para As(III): LD es $0,13 \mu\text{g L}^{-1}$ y el LQ es $0,44 \mu\text{g L}^{-1}$.

LD y LQ para As_{total}: LD es $0,30 \mu\text{g L}^{-1}$ y el LQ es $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

SECCIÓN B. CONTROL DE CALIDAD

10.5.19. Control de la exactitud

La exactitud se evalúa según la puntuación Z , calculada de acuerdo con el “Programa Internacional de Evaluación de la Aptitud Analítica de Laboratorios GEOPT” [29], mediante la fórmula:

$$Z_{\text{GEOPT}} = (X_r - X_{af}) / H_{af} = (X_r - X_{af}) / (k X_{af}^{0,8495}) \quad (10.18)$$

donde:

X_r : concentración del elemento obtenida por el laboratorio, en forma de fracción, $X_r = X/100$ para valores en %; $X_r = X/10^6$ para valores en mg L^{-1} ; $X_r = X/10^9$ para valores en $\mu\text{g L}^{-1}$; etc.

X_{af} : concentración atribuida al elemento por el programa GEOPT, en forma de fracción.

H_{af} : valor a apuntar del desvío estándar calculado como $H_{af} = kX_{af}^{0,8495}$ con el valor fraccionado de X_a (X_{af}) y $k = 0,02$.

El valor de Z_{GEOPT} debe estar entre $-2 < Z < 2$ para que se pueda considerar una puntuación satisfactoria, es decir, que no involucre una toma de acción sobre la metodología.

En caso de que el criterio Z_{GEOPT} no sea satisfecho, se usa el criterio Z_{IncX_a} :

$$-2 \leq Z_{IncX_a} = (X - X_a) / (IncX_a) \leq 2 \quad (10.19)$$

donde:

X : concentración del elemento obtenida por el laboratorio,

X_a : valor de referencia, VR, del elemento

$IncX_a$: incertidumbre asociada al VR

Si no se cumpliera esta regla tampoco, el procedimiento debe ser revisado y el análisis debe ser repetido.

10.5.19.1. Soluciones de materiales de referencia certificados, MRC. La exactitud del método puede ser evaluada a través del valor de Z , por análisis de un material de referencia certificado (MRC), obtenido comercialmente, de matriz lo más semejante posible a la de las muestras a analizar. Se manipula el MRC según las instrucciones y se analiza como se describe en la Sección de Procedimiento.

10.5.19.2. Soluciones de referencia internas. En caso de que no exista una solución de MRC en el laboratorio, se puede evaluar la exactitud del método a través de una solución de referencia interna, SRI, preparada en el laboratorio, como la que se describe en el punto 10.5.9.11. Se analiza la SRI como se describe en la Sección de Procedimiento.

10.5.19.3. Para control del método en el rango de las bajas concentraciones, pipetear 1 mL de la solución SRI y analizar como se describe en la Sección de Procedimiento. La diferencia con el valor de referencia no debe ser superior a 30%.

10.5.19.4. Para control del método en el rango de las concentraciones medias, pipetear 8 mL de la solución SRI y analizar como se describe en la Sección de Procedimiento. La diferencia con el valor de referencia no debe ser superior a 20%.

10.5.19.5. El agua natural empleada como matriz de la SR debe ser utilizada sistemáticamente a lo largo de, por lo menos, 1 año, para que se pueda determinar la reproducibilidad intermedia y exactitud de la metodología con fiabilidad estadística. Debe ser, también, siempre confirmada la existencia, o no, de As en la matriz de dicha agua.

10.5.20. Control de la precisión

10.5.20.1. La repetibilidad de los resultados se evalúa mediante ensayos en duplicado ejecutados en, por el menos, 20% de las muestras analizadas.

10.5.20.2. El porcentaje de la desviación promedio relativa, RPD, entre duplicados se calcula como:

$$RPD = 100 \times (C_A - C_D) / [(C_A + C_D) / 2] \quad (10.20)$$

siendo C_A la concentración de la muestra y C_D la concentración de la muestra duplicada.

10.5.20.3. Los criterios de aceptación de duplicados son:

- $RPD \leq 20\%$ para los valores inferiores a $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) o a $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de As_{total} , para la determinación, respectivamente, de As(III) o As_{total} .

- $RPD \leq 10\%$ para los valores superiores a $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) o a $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de As_{total} , para la determinación, respectivamente, de As(III) o As_{total} .

10.5.20.4. Si los criterios de aceptación no fueren satisfechos, se debe repetir el análisis de la muestra y del duplicado. Si el incumplimiento se mantiene, esto significa la probable existencia de interferencia de matriz. Se debe analizar la muestra por el método de la adición estándar.

10.5.21. Ensayos de recuperación

10.5.21.1. En por lo menos 20% de las muestras analizadas, ejecutar ensayos de recuperación para verificación de la existencia de interferencias de matriz. El porcentaje de recuperación, %R, se calcula como:

$$\%R = 100 \times (C_{AR} - C_A)/C_R \quad (10.21)$$

siendo C_A la concentración de la muestra, C_R la concentración del estándar adicionado, y C_{AR} la concentración de la muestra con estándar adicionado.

10.5.21.2. Preparar dos soluciones de muestra por duplicado y a una de ellas adicionar:

A) para la determinación de As(III):

a) 0,20 mL de solución estándar $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) (adición de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III)) si la concentración de As(III) en la muestra es inferior a $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$; la %R deberá situarse entre 70 y 130%.

b) 1 mL de solución estándar de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) (adición de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ As(III)) si la concentración de As(III) en la muestra es superior a $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$; la %R deberá si situar entre los 80% y 120%.

B) para la determinación de As_{total} :

a) 0,50 mL de solución estándar $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) (adición de $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ As_{total}) si la concentración de As_{total} en la muestra es inferior a $5 \mu\text{g L}^{-1}$; la %R deberá situarse entre 70 y 130%.

b) 1 mL de solución estándar $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) (adición de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ As_{total}) si la concentración de As_{total} en la muestra es superior a $5 \mu\text{g L}^{-1}$; la %R deberá situarse entre 80 y 120%.

10.5.22. Control de blancos

10.5.22.1. En campo, durante la recolección de aguas, se debe preparar un blanco, BC, siguiendo exactamente el mismo procedimiento de la recolección de las muestras.

10.5.22.2. En el laboratorio, al momento del ensayo, se debe preparar un blanco, BL, siguiendo exactamente el mismo procedimiento de preparación de las muestras.

10.5.22.3. El valor de los BLANCOS no debe ser superior al límite de detección del método, LD; en caso contrario, debe ser restado del valor de las muestras.

10.5.22.4. Cuando el criterio de aceptación del BLANCO no fuera satisfecho, se debe determinar cuál es la fuente de la contaminación para que se pueda corregir la situación: si es por contaminación de material y/o de alguno de los reactivos utilizados en la preparación de la muestra.

10.5.23. Estándares de verificación

10.5.23.1. La curva de calibración se verifica con dos estándares de control, CTRL1 y CTRL2, preparados en el laboratorio a partir de soluciones *stock* diferentes de las utilizadas en la preparación de la curva de calibración. El resultado no debe presentar una diferencia con el valor de referencia superior a 20%.

A) Para As(III), CTRL1 es 1 ng mL⁻¹ y CTRL2 es 5 ng mL⁻¹.

B) Para As(T), CTRL1 es 2.5 ng mL⁻¹ y CTRL2 es 10 ng mL⁻¹.

10.5.23.2. Si se cumplen los criterios de aceptación, se considera que la curva de calibración no sufrió alteración significativa a lo largo del análisis; en caso contrario, se debe preparar una nueva curva de calibración.

10.5.24. Incertidumbre del método [30, 31]

10.5.24.1. Incertidumbre relativa de la precisión ($u_{relPrec}$)

$$u_{relPrec} = \frac{R_{mPrec}}{1,128} \quad (10.22)$$

La incertidumbre relativa de la precisión, $u_{relPrec}$, se calcula a través de los n resultados ($n > 10$) de los controles, CTRL, y/ o de los duplicados (x_1 y x_2). El valor de R_{mPrec} es lo valor medio de las amplitudes relativas entre los valores de los duplicados y/ o entre los valores de CTRL y es calculado como:

$$R_{mPrec} = \frac{\sum \frac{|x_1 - x_2|}{x_1 + x_2}}{n} \quad (10.23)$$

10.5.24.2. Incertidumbre relativa de la exactitud ($u_{relExact}$)

$$u_{relExact} = u(R_{mExact}) = R_{mExact} \times \sqrt{\left(\frac{s_{obs}^2}{n \times C_{obs}^2}\right) + \left(\frac{u(C_{MRC})/2}{C_{MRC}}\right)^2} \quad (10.24)$$

La incertidumbre relativa de la precisión se evalúa a través de los n resultados ($n > 10$) de los materiales de referencia certificados (MRC) y/o la solución de referencia interna (SRI), con $R_{mExact} = C_{obs}/C_{MRC}$.

C_{MRC} : concentración de referencia del MRC (procedente del certificado de análisis)

$u(C_{MRC})$: incertidumbre en la concentración del MRC (procedente del certificado de análisis)

C_{obs} : concentración media de los n resultados experimentales obtenidos para el MRC.

s_{obs} : desviación promedio de los n resultados experimentales obtenidos para el MRC

$R_{mExact} = C_{obs}/C_{MRC}$ (es el cociente entre el valor medio observado y el valor de referencia).

10.5.24.3. Incertidumbre combinada relativa (u_{rel}^C)

$$u_{rel}^C = \sqrt{u_{relPrec}^2 + u_{relExact}^2} \quad (10.25)$$

La incertidumbre combinada relativa del método, u_{rel}^C , se calcula como la suma de la incertidumbre relativa de la precisión con la incertidumbre relativa de la exactitud.

10.5.24.4. Incertidumbre combinada expandida relativa (U_{rel}^{exp})

$$U_{rel}^{exp} = k \times u_{rel}^C = 2 \times u_{rel}^C \quad (10.26)$$

La incertidumbre combinada expandida relativa del método, U_{rel}^{exp} , para (n-1) grados de libertad con un intervalo de confianza de 95% es igual a dos veces la incertidumbre combinada relativa.

10.5.25. Reporte de resultados

Los resultados son reportados como:

$$C \pm U_{rel}^{exp} \quad (10.27)$$

Si aún no se conoce la incertidumbre del método:

- Para valores inferiores a 1 $\mu\text{g L}^{-1}$, los resultados se reportan con dos decimales.
- Para valores entre 1 y 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, los resultados se reportan con un decimal.
- Para valores superiores a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, los resultados se reportan a la unidad.

REFERENCIAS

1. Harris, D.C., *Voltammetry In Quantitative Chemical Analysis*, 7th ed. Chap. 19/ Voltammetry. W. H. Freeman: New York, EE. UU. 2007.
2. Bard, A.J., Faulkner L.R., *Controlled Potential Microelectrode Techniques – Potential Step Methods*. In *Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, EE. UU. 1980.
3. Florence, T.M., *Electrochemical Techniques for Trace Element Speciation in Waters*. In *Trace Element Speciation: Analytical Methods and Problems*; G. E. Batley, Ed.; CRC Press, Florida, EE. UU: 1986.
4. Pretty, J. R., Blubaugh, E. ., Caruso, J.A., *Anal. Chem.* 65 (1993) 3396.
5. Ito, A., Takachi, T., Kitada, K., Aizawa, J., Umita, T., *Appl. Organometal. Chem.* 15 (2001), 266.
6. United States Environmental Protection Agency. Arsenic Occurrence in Public drinking Water Supplies; Document N° EPA-815-R-00-023. December 2000. USEPA Office of Water (4607): Whashington, D.C.; 2000.
7. Barros, A.A., *Portug. Electr. Acta* 10 (1992) 135.
8. Wang J., 2 Principles. In *Stripping Analysis - Principles, Instrumentation and Applications*; VCH Publishers: U.S.A., 1985.
9. U.S.E.P.A. Analytical Methods Support Document For Arsenic in Drinking Water; EPA 815-R-00-010 December 1999; U.S.E.P.A Office of Water, Washington, D.C., 1999.
10. Ferreira, A., Barros, A..A., *Anal. Chim. Acta* 491 (2002) 151.
11. Sadana, R.S., *Anal. Chem.* 55 (1983) 304.
12. Kotoucek, M., Vasicova, J., Ruzicka, J., *Mikrochim. Acta* 111 (1993) 55.
13. Li H., Smart R.B., *Anal. Chim. Acta*, 325 (1996) 25.
14. Jarvis, I., Jarvis, K. E., *Chem. Geol.* 95 (1992) 1.
15. Eaton, A.D. Material and Methods. In *Analytical Chemistry of Arsenic in Drinking Water*; AWWA Research Foundation and American Waters Works Association: U.S.A., 1998.
16. Paukert, T., Sirotek, Z., *Chem. Geol.* 107 (1993) 133.
17. Ficklin, W.H., *Talanta*, 30 (1983) 371.
18. Yokoyama, T., Takahashi, Y., Tarutani, T., *Chem. Geol.* 103 (1993) 103.
19. Cavicchioli, A., La-Scalea, M.A., Gutz, I.G.R., *Electroanalysis* 16 (2004) 697.
20. Hung, D.Q. Nekrassova, O., Compton R.G., *Talanta* 64 (2004) 269.
21. Ali, I., Jain C.K., *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 84 (2004) 947.
22. McCleskey, R.B., Kirk Nordstrom, D., Maest, A.S., *Applied Geochem.* 19 (2004) 995.
23. Oliveira, V., Sarmiento, A.M., Gómez-Ariza, J.L., Nieto, J.M., Sánchez-Rodas, D., *Talanta* 69 (2006) 1182.
24. Stand VA663 Instructions for use 8.663.1003. Metrohm. Suiza, Herisau 1995.
25. AUTOLAB Electrochemical Instruments; Eco Chemie BV. Holanda; 1997
26. MetroData Software Manual 8.797.8033. Metrohm. Suiza, Herisau, 2007.

27. 797VA Computrace Manual 8.797.8001EN. Metrohm. Suiza, Herisau, 2007.
28. J. C. Miller, J. N. Miller, "Errors in instrumental analysis; regression and correlation", in: *Statistics for Analytical Chemistry*, 2nd ed.; Ellis Horwood Ltd., Chichester, Reino Unido, 1988.
29. Protocol for the Operation of Geo PTTM Proficiency Testing Scheme. Revision: January 2002. International Association of Geoanalysts, Reino Unido, 2001.
30. Magnusson, B., Naykki, T., Hovind, H., Krysell, M.. NORDTEST Report TR537 2004-02. Handbook for calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories, 2nd ed.; NORDTEST Tekniikantie; Finlandia, 2004.
31. EURACHEM/CITAC Guide QUAM:2000.P1. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2nd ed.; Ed. S. L. R. Ellison (LGC, Reino Unido), M. Rosslein (EMPA, Suiza), A. Williams (Reino Unido).

Capítulo 11

Especiación de arsénico en muestras acuosas y sólidas por análisis de difracción de rayos X, espectroscopía infrarroja y Raman, espectroscopía de absorción de rayos X y extracción secuencial

VIRGINIA S.T. CIMINELLI, CLÁUDIA L. CALDEIRA, GABRIELA CORDEIRO SILVA, REGINA PINTO DE CARVALHO, KATHARINA MÜLLER, MARIA SYLVIA SILVA DANTAS, GRAZIELE DUARTE, MÔNICA CRISTINA TEIXEIRA Y FERNANDO L. PANTUZZO

11.1. INTRODUCCIÓN

Con el objetivo de identificar y caracterizar minerales, compuestos químicos y otros materiales, se han usado varios métodos de análisis tales como difractometría, espectroscopía y microscopía electrónica. La mayoría de estos métodos son no destructivos y brindan información sobre la composición y la estructura de fases cristalinas y amorfas.

Como ya se ha indicado en capítulos anteriores, la función de las técnicas espectroscópicas es detectar y analizar la radiación electromagnética que proviene de una muestra. Esta radiación puede resultar de la transmisión o dispersión de un haz incidente u originarse en la propia muestra. Cada región del espectro electromagnético interacciona de forma distinta con la materia: los rayos γ pueden ser emitidos o absorbidos por los núcleos, posibilitando un cambio de estado; los rayos X pueden interactuar con núcleos y electrones, siendo absorbidos o dispersados; la luz visible puede interactuar con los electrones de átomos y moléculas, promoviéndolos a estados excitados; y la radiación infrarroja puede estimular vibraciones y rotaciones moleculares.

Las técnicas descritas en el presente capítulo son: difracción de rayos X, espectroscopía infrarroja, dispersión Raman y espectroscopía de absorción de rayos X. Estas técnicas permiten caracterizar las fases mineralógicas conteniendo arsénico o asociadas al arsénico; si se asocian a una extracción secuencial, pueden cuantificar el arsénico presente en cada fase. La difracción de rayos X determina las fases mineralógicas de compuestos cristalinos presentes en la muestra en concentración superior a aproximadamente 3-5%. Los picos de absorción (o dispersión) que aparecen en los espectros obtenidos por las técnicas de infrarrojo y Raman son característicos de las vibraciones de determinados grupos funcionales presentes en las muestras, cristalinas o amorfas. La espectroscopía de absorción de rayos X brinda información sobre el estado de oxidación y el entorno del átomo. Estas técnicas, en conjunto, permiten identificar los sitios que tienen interés para el estudio; por ejemplo, en la adsorción de arsénico, además de informar sobre el estado de oxidación, pueden arrojar datos sobre los átomos vecinos al elemento adsorbido.

11.2. TÉCNICAS DE ANÁLISIS

11.2.1. Difracción de Rayos X [1]

Un material sólido cristalino está caracterizado por su estructura, es decir, por el arreglo espacial regular de sus átomos. Los métodos de difracción permiten identificar estructuras cristalinas. La difracción de rayos X (DRX) de polvos es una técnica muy utilizada para la identificación de muestras naturales de minerales y rocas, así como para la identificación de fases producidas por reacciones en el laboratorio. El método implica la interacción de la radiación electromagnética con los átomos de la muestra. Cuando el haz de rayos X bombardea una muestra, el haz difractado refleja los planos de la estructura cristalina, que interfieren constructivamente. Esta interferencia sólo ocurre cuando la diferencia en la trayectoria es un múltiplo entero “ n ” de la longitud de onda λ . Los rayos difractados por cada cristalito, que se encuentra orientado en forma aleatoria formando un ángulo θ con el haz, deben satisfacer la ecuación de Bragg:

$$\lambda = 2d \sin \theta \quad (11.1)$$

donde λ es la longitud de onda de la radiación, θ es el ángulo de incidencia del haz con los planos del cristal y d corresponde al espaciado entre los planos en el cristal. El difractograma exhibe la intensidad de la difracción observada en función del ángulo de incidencia. Este difractograma es característico de la muestra, y la identificación de las fases presentes se realiza por comparación con los espectros de patrones disponibles en un banco de datos internacional.

11.2.2. Espectroscopía infrarroja (IR) [2]

La radiación infrarroja se subdivide en infrarrojo cercano (14000 cm^{-1} a 4000 cm^{-1}), infrarrojo medio (4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}) e infrarrojo lejano (400 cm^{-1} a 4 cm^{-1}). La mayor parte de las moléculas absorbe luz en el infrarrojo medio.

El movimiento vibracional causado por la absorción en el infrarrojo es complejo, pero puede ser analizado como constituido por un determinado número de vibraciones, llamadas modos normales de vibración.

Solamente las vibraciones normales que producen una variación en el momento dipolar de la molécula serán activas en la espectroscopía infrarroja, esto es, podrán absorber la radiación incidente. El momento dipolar es una medida de la asimetría en la distribución de cargas de una molécula y consiste en una magnitud vectorial, representada por $\bar{\mu}$. Las vibraciones normales que no producen una variación del momento dipolar eléctrico no pueden absorber radiación infrarroja, y se llaman vibraciones inactivas en esta región.

Las energías vibracionales de las moléculas son cuantizadas. Cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, sufre una transición a un nivel de energía vibracional más alto. Esta transición sólo es posible cuando la energía de la radiación que incide en la molécula es igual a la diferencia de energía entre los niveles de energía vibracionales.

Por lo tanto, las dos condiciones necesarias para que ocurra absorción en el infrarrojo son la variación del momento dipolar de la molécula durante la vibración y la incidencia de radiación con energía correspondiente a la diferencia de los niveles vibracionales. Un espectro infrarrojo mostrará bandas de absorción a valores de energía correspondientes a esas vibraciones.

La forma más simple de modelar las vibraciones moleculares es utilizando el modelo del oscilador armónico, si se supone que los átomos de una molécula diatómica son masas puntuales, correspondientes a los núcleos atómicos, unidas por resortes de masa despreciable que corresponden a las uniones químicas.

Un tratamiento preciso de las vibraciones de moléculas complejas es impracticable. Se debe, entonces, interpretar el espectro infrarrojo por comparaciones empíricas y extrapolaciones del estudio de moléculas más simples. Suponiendo que los átomos de una molécula poliatómica oscilan armónicamente y sin interferencia de los átomos restantes (aproximación diatómica), podemos calcular el valor de las frecuencias de las vibraciones de muchos grupos funcionales.

La espectroscopía infrarroja presenta algunas ventajas como técnica de análisis químico. Pueden, en principio, ser analizados por esta técnica sólidos, líquidos, gases, semisólidos, polvos y polímeros. El espectro infrarrojo es rico en información: la posición, intensidad, altura y formato de los picos en un espectro proporcionan información sobre las uniones químicas presentes. Es una técnica relativamente rápida, fácil y sensible. Pequeñas cantidades (microgramos) de muestra pueden ser preparadas y analizadas en menos de 5 minutos. Por último, los equipos son relativamente baratos.

A pesar de sus ventajas, la espectroscopía de infrarrojo no puede ser usada para todos los tipos de muestras, ya que la sustancia debe contener uniones químicas para generar un espectro infrarrojo. Por lo tanto, átomos o iones monoatómicos no presentan espectro IR. Otra clase de sustancias que no absorben radiación infrarroja son las moléculas diatómicas homonucleares, debido a su simetría. Una dificultad encontrada en la aplicación de la técnica es en el análisis de mezclas complejas. En este caso, el espectro será una mezcla de los espectros individuales de los diversos constituyentes de la muestra, dificultando la asignación de las bandas a las moléculas presentes. La mejor manera de trabajar con mezclas complejas es, por ejemplo, separar sus constituyentes para facilitar la identificación de las bandas. También son difíciles de analizar las soluciones acuosas, pues el agua absorbe fuertemente la radiación infrarroja, impidiendo la identificación de compuestos con vibración molecular en la misma región.

11.2.3. Espectroscopía Raman [3]

El efecto Raman consiste en la dispersión inelástica de luz: el fotón incidente pierde o gana energía en el proceso de dispersión por el material, de forma que el fotón dispersado presentará energía inferior o superior a la energía del fotón incidente. Las diferencias de energía entre la luz incidente y dispersada están relacionadas a las diversas propiedades vibracionales de las moléculas presentes en el material.

A pesar de que las técnicas de IR y Raman aportan información sobre los modos vibracionales de las moléculas, el origen de sus espectros es bastante distinto. A diferencia del IR, cuyas medidas se realizan por absorción de radiación en la región del infrarrojo, en la espectroscopía Raman la muestra es irradiada por haces intensos de láser en la región UV-visible (ν_0), y se observa la luz dispersada. La luz dispersada puede ser de dos tipos: la dispersión Rayleigh, fuerte y de igual frecuencia que el haz incidente (ν_0), y la dispersión Raman, muy débil y con frecuencias $\nu_0 \pm \nu_m$, donde ν_m es la frecuencia vibracional de una molécula. Las líneas $\nu_0 - \nu_m$ y $\nu_0 + \nu_m$ son llamadas líneas Stokes y anti-Stokes, respectivamente. Se mide la frecuencia vibracional como una desviación de la frecuencia del haz incidente (ν_0). Por lo tanto, aunque el IR mide directamente las frecuencias de los modos vibracionales, en el Raman esas frecuencias se calculan por diferencia entre luz incidente y luz dispersada.

El momento dipolar de una molécula puede ser generado o modificado por el campo eléctrico de la luz (Y). Cuanto mayor es el campo, mayor es el momento dipolar inducido (P), según la expresión: $P = \alpha Y$. α es la polarizabilidad de la molécula y es una medida de la facilidad con que la distribución de las cargas negativas de la molécula puede ser deformada. Aunque en el IR una vibración es activa si el momento dipolar varía, en la dispersión Raman varía la polarizabilidad. Por lo tanto, como las reglas de selección son diferentes para cada técnica, algunos modos son activos en una técnica y no en otra, aunque otros son activos en ambas técnicas.

La espectroscopía Raman es una técnica no destructiva, que no exige preparación de las muestras y brinda información complementaria a las obtenidas por la espectroscopía de infrarrojo. Con esta técnica, se pueden analizar moléculas diatómicas homonucleares, soluciones acuosas y mezclas complejas heterogéneas; en este último caso, el equipo posee un microscopio que permite seleccionar el área a ser analizada. Por otra parte, la espectroscopía Raman, así como la espectroscopía de infrarrojo, no pueden ser usadas para identificar átomos o iones monoatómicos.

La espectroscopía Raman ha sido utilizada en la identificación de fases y compuestos contenidos en rocas, minerales, productos de corrosión, relaves (jales) y residuos industriales. En el área ambiental es una técnica todavía poco utilizada. Por otra parte, se muestra promisorio ya que permite la realización de microanálisis, contribuyendo a definir la especiación del elemento químico así como la identificación de moléculas (tipos de uniones involucradas). La identificación es posible incluso cuando los constituyentes de interés se encuentran presentes en cantidades tales que no podrían ser determinados por otras técnicas, como la difracción de rayos X. El análisis por espectroscopía Raman presenta, además, las ventajas del análisis en regiones seleccionadas de la muestras (incluso en partículas individuales), de la identificación de fases poco cristalinas y amorfas, y de pequeñas cantidades de material.

La mayoría de los minerales o compuestos presenta un espectro Raman único, constituido por bandas estrechas y bien definidas, asociadas a vibraciones locales o de red. La técnica permite también la identificación de oxianiones (p. ej., SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , PO_4^{3-} , AsO_4^{3-} , y otros), ya que éstos son buenos dispersantes de la luz, y pueden estar presentes en la forma de compuestos adsorbidos en una matriz.

11.2.4. Espectroscopía de absorción de rayos X [4]

El principio básico de la espectroscopía de absorción de rayos X (*X-Ray Absorption Fine Spectroscopy*, XAFS) consiste en la excitación de los electrones localizados en los niveles atómicos K, L ó M del átomo absorbedor de rayos X. Si la energía del fotón incidente es suficiente para arrancar los electrones localizados en los niveles internos, entonces la absorción aumenta drásticamente, observándose un salto en el espectro de absorción. Este aumento verificado en el espectro se denomina borde (o canto) de la banda de absorción (en inglés *absorption edge*) y la energía con la cual ocurre esta absorción depende de la energía de unión de los electrones al átomo, siendo, por lo tanto, característica de cada elemento químico. Cuando ocurre una absorción de energía mayor al de la energía de unión, el exceso de energía es transformado por el fotoelectrón en energía cinética.

Mediante la técnica XAFS se obtiene un espectro del coeficiente $\mu(Y)$ de absorción de los rayos X en función de la energía de la radiación incidente, Y . La Figura 11.1 muestra el espectro de absorción de rayos X en el borde del arsénico (11873 eV). Para átomos aislados (en el estado gaseoso) se verifica una caída suave en la absorción hasta el próximo borde de absorción, aunque para sistemas más complejos (estado sólido o

líquido), se observan oscilaciones en el coeficiente de absorción $\mu(Y)$ después del borde de absorción. Por lo tanto, el espectro de XAFS se divide en dos regiones: XANES (*X-Ray Absorption Near Edge Structure*), que permite obtener información sobre el estado de oxidación del átomo absorbedor, y EXAFS (*Extended X-Ray Absorption Fine Structure*), que provee el número de coordinación, las distancias interatómicas y la naturaleza de los átomos vecinos al estudiado. La región de XANES presenta variaciones estrechas e intensas en el borde de absorción que indican los estados electrónicos que pueden ser ocupados por el fotoelectrón. La región de EXAFS comprende la absorción de energía que ocurre después del borde, presentando oscilaciones más suaves en la absorción. Estas oscilaciones se pueden explicar como resultado de la interferencia entre la función de onda del fotoelectrón y la de la retrodifracción de esta función de onda por los átomos vecinos.

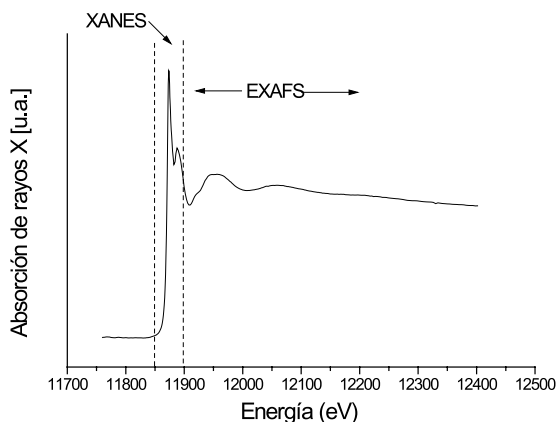


Figura 11.1. Representación de un espectro de absorción de rayos X, ilustrando las dos principales regiones en el borde K del arsénico.

Las medidas de XAFS pueden ser realizadas en los modos de transmisión o fluorescencia. La dependencia del coeficiente de absorción μ con la energía se obtiene por comparación entre la intensidad del haz incidente en la muestra y la intensidad del haz transmitido o emitido por fluorescencia.

En las medidas de transmisión, las muestras deben ser suficientemente delgadas para proporcionar una buena relación señal/ruido en la medida de la intensidad del haz transmitido, y la concentración del elemento debe ser mayor al 10%. Las medidas de fluorescencia son más apropiadas en muestras diluidas, con concentraciones del elemento por debajo de 10%, o en muestras concentradas pero no suficientemente delgadas para medidas de transmisión.

Para realizar medidas de XAFS, se necesita una fuente intensa de rayos X, que puede ser encontrada en laboratorios de luz sincrotrón.

Con los valores de intensidad para cada energía, obtenidos por los detectores, se calculan los valores de $\mu(Y)$. En el proceso de interpretación de los datos, es preciso eliminar la señal de fondo. Luego se aplica una transformada de Fourier a la función obtenida, lográndose una función de distribución radial. Se puede extraer información tal como el número de átomos vecinos, la longitud de la unión atómica, la naturaleza de los átomos vecinos, el grado de desorden y camino libre medio del fotoelectrón, ajustándose los datos a una función proveniente de un modelo.

Podemos citar algunas características de la espectroscopía de absorción de rayos X que la vuelven una herramienta única para estudios estructurales. Se trata de una técnica

que posee selectividad atómica, siempre y cuando se disponga de una fuente de rayos X sintonizable en energía (lo cual es posible con fuentes de luz sincrotrón), pues la energía de unión de los electrones más internos es característica de cada átomo. Además de esto, (i) permite probar la estructura en la vecindad del átomo excitado, esto es, el ordenamiento de corto alcance, (ii) permite estudiar la estructura local alrededor de átomos en una matriz, aunque éste se encuentre en concentraciones muy bajas y (iii) es aplicable tanto para muestras en el estado gaseoso como para materia condensada.

La Tabla 11.1 presenta una síntesis sobre las principales aplicaciones y limitaciones de las técnicas de análisis discutidas en esta sección.

11.3. ESTUDIOS DE CASOS

11.3.1. Identificación de arsénico en muestras de relave de la minería del oro

El arsénico, en forma de compuestos como arsenopirita (FeAsS), es constituyente frecuente de diversos minerales, como los de cobre, zinc, níquel y oro. El procesamiento hidrometalúrgico de estos minerales involucra el tratamiento de grandes cantidades de sólidos, debido a la baja concentración del metal de interés (p. ej. g Au/t de mineral o 1-2% Cu). Consecuentemente, deben descartarse grandes volúmenes de relaves (jales) y de rechazos de minerales. Por lo tanto, es común la presencia de arsénico en el estéril (rechazo de minería) o en los relaves – provenientes de la presencia de arsenopirita – o en los productos del tratamiento de efluentes. La Figura 1.1 del Capítulo 1 (diagrama Eh-pH del arsénico) indica que en el rango de pH de 4 a 9, típico de aguas superficiales, en condiciones oxidantes predominan los iones arseniato, mono- y divalentes y, en condiciones reductoras, la especie neutra H_3AsO_3 . En muestras ambientales, el arsénico se encuentra generalmente en bajas concentraciones en forma de sólidos no cristalinos, lo cual dificulta la identificación de su forma de ocurrencia y asociaciones. El uso combinado de diversas técnicas analíticas es, por lo tanto, una necesidad corriente en estos casos. Aquí describiremos la aplicación combinada de diferentes técnicas analíticas, apuntando a la identificación y cuantificación de las fases de arsénico en muestras complejas de residuos de la minería de oro. El contenido de arsénico y sus especies predominantes en suelos, residuos y relaves de minería son parámetros importantes para la evaluación del potencial de movilidad, toxicidad y biodisponibilidad del arsénico en el medio ambiente. Las industrias minera y metalúrgica fueron seleccionadas por ser actividades antrópicas muy importantes en la generación de fuentes potenciales de contaminación de arsénico, así como por su importancia económica para la región iberoamericana.

Técnicas de análisis	Tipo de muestra	Preparación de la muestra	Límite de detección	Información obtenida
Difracción de rayos X	sólidos cristalinos y polvos	no necesita preparación	concentración de la fase > 3-5 %	determinación de fases mineralógicas
Espectroscopía de infrarrojo	sólidos cristalinos o amorfos, líquidos, gases, polvos, polímeros y materia orgánica	pastillas con KBr o disolución del polvo en KBr	bastante sensible, > 1%	uniones químicas presentes
Espectroscopía Raman	sólidos cristalinos o amorfos, líquidos, gases, polvos, polímeros y materia orgánica	no necesita preparación	concentración > 3 %	uniones químicas presentes, definición de la especiación del elemento químico, identificación de fases poco cristalinas y amorfas
Espectroscopía de absorción de rayos X	estado gaseoso y materia condensada	muestras de granulometría fina levemente compactadas en capa fina, de modo de garantizar la transparencia de la muestra	concentración del elemento > 10%	estado de oxidación y entorno del átomo
Medidas de fluorescencia	estado gaseoso y materia condensada	muestras de granulometría fina compactadas	concentración del elemento > 0,1%.	estado de oxidación y entorno del átomo

Tabla 11.1. Síntesis sobre las aplicaciones y limitaciones de algunas técnicas de análisis

11.3.1.1. Relaves de minería del oro provenientes del circuito de tostación-lixiviación

Los minerales refractarios de oro son aquéllos que no presentan resultados satisfactorios de recuperación de este metal cuando se los somete a condiciones usuales de cianuración. Una de las causas de refractariedad es la ocurrencia de oro ocluido y diseminado en granos de sulfuros metálicos, especialmente pirita (FeS_2) y arsenopirita.

Para hacer posible la extracción del metal, los minerales refractarios son sometidos a procesos como la tostación, que promueven la conversión de los sulfuros (matriz compacta) en óxidos de hierro cristalinos (matriz porosa), principalmente hematita y magnetita, garantizando así el acceso del agente lixivante.

Las muestras estudiadas en este caso, designadas como Relave 1 y Relave 2, provienen del procesamiento de mineral refractario de oro. Su composición química se presenta en la Tabla 11.2. Los elementos mayoritarios constituyentes de las muestras son el hierro ($\text{Fe}_{\text{tot}} = 43\%$) y la sílice ($\text{SiO}_2 = 21\%$). La composición mineralógica de las muestras obtenida por DRX se presenta en la Figura 11.2. La DRX permite la identificación de fases cristalinas en concentraciones superiores a 4-5%. La muestra Relave 1 está constituida predominantemente por hematita y cuarzo. Además de estas fases, se observa la presencia, en bajas concentraciones, de los siguientes minerales: sulfuros (pirita, pirrotita y arsenopirita), carbonatos (siderita y dolomita), clorita, mica, feldespato y sulfato de calcio. La muestra Relave 2 está constituida por hematita, cuarzo y, minoritariamente, mica. Es importante destacar que el único mineral portador de arsénico sugerido por DRX fue la arsenopirita (contenido $\text{FeAsS} < 3\%$). Ambas muestras presentan contenidos de arsénico de alrededor de 0,5%, por lo cual en el análisis de DRX no se identificaron fases portadoras de arsénico para la muestra Relave 2.

Tabla 11.2. Composición química

Determinaciones realizadas	Relave 1	Relave 2
PPC	5,9 %	2,5 %
Fe_{Total}	42,7 %	52,7 %
Fe^{2+}	3,9 %	0,39 %
As_{Total}	0,52 %	0,56 %
C_{Total}	0,94 %	0,04 %
S_{Total}	6,0 %	1,5 %
$\text{SiO}_2_{\text{Total}}$	20,7 %	16,5 %
Cu	0,05 %	0,04 %
Zn	0,19 %	0,22 %
$\text{As}_{\text{Soluble}}$	0,50 %	0,53 %
Ca	0,05 %	0,09 %
Mg	0,49 %	0,21 %

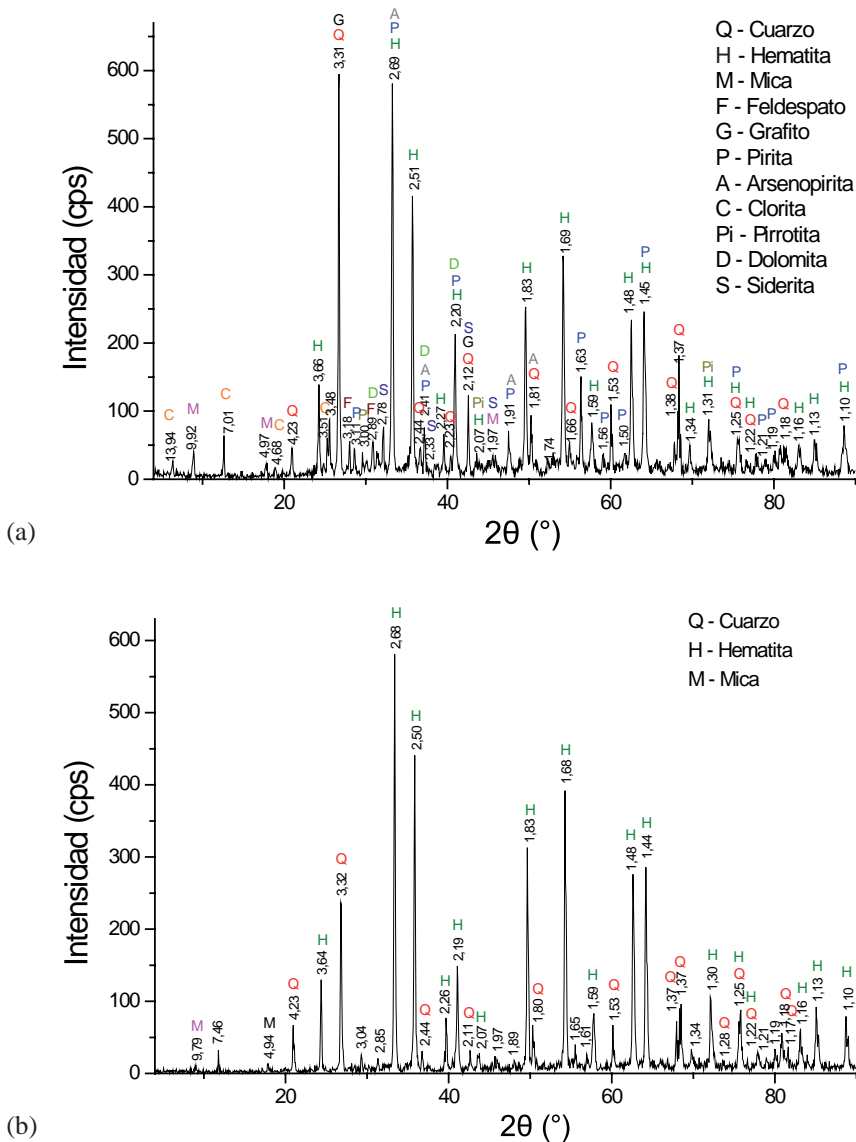


Figura 11.2. Difractogramas de las muestras Relave 1 (a) y Relave 2 (b).

11.3.1.2. Extracción secuencial

La extracción secuencial es una herramienta valiosa para identificar el contenido de As asociado a las diferentes fases presentes en la muestra. De esta forma, los ensayos de extracción secuencial apuntan a la disolución selectiva de los minerales constituyentes de las muestras que permitan identificar la asociación del arsénico con las diferentes fases minerales solubilizadas [5]. Esta técnica consiste en someter la muestra a diferentes agentes lixiviantes, elegidos de acuerdo con su selectividad para solubilizar determinado mineral o grupos de minerales previamente identificados [6]. Para las muestras investigadas en el presente estudio de caso, los lixiviantes ensayados se presentan en la Figura 11.3, así como las condiciones del ensayo y las fases que pueden ser solubilizadas [5,7]. Los

ensayos de extracción secuencial se realizaron por duplicado e involucraron cinco etapas; entre cada etapa, el residuo se lavaba con 25 mL de NaNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

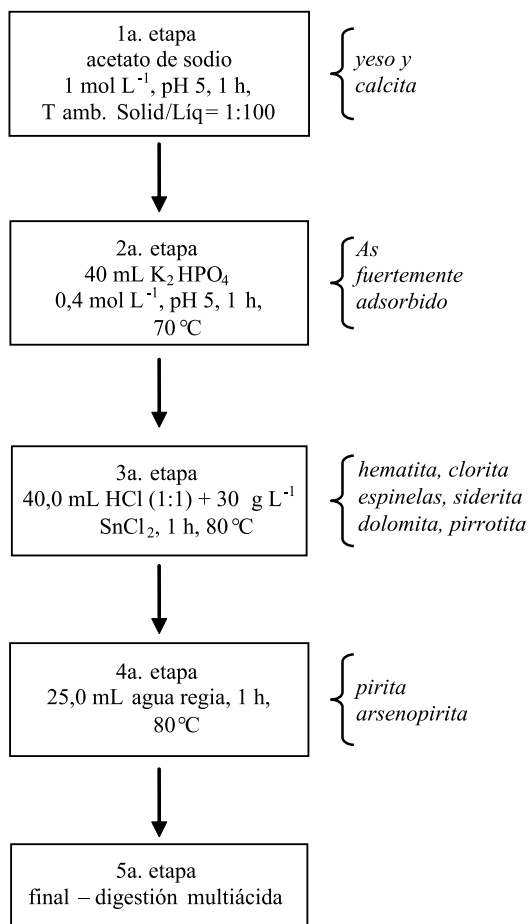


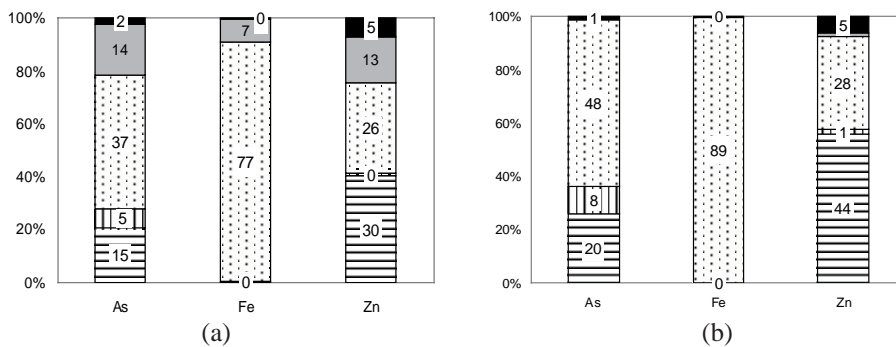
Figura 11.3. Diagrama de flujo indicando las etapas de solubilización adoptadas en el ensayo de extracción secuencial de relaves de proceso de extracción de oro. Condición 5ª. etapa – digestión multiácida (1er. ciclo – 3 mL HCl, 1 mL HNO_3 y 2 mL HF; 2º. ciclo – 1 mL HF, 3er. ciclo – 0,5 g ácido bórico).

Los resultados de la extracción secuencial (Figura 11.4) muestran que la principal diferencia entre las muestras se debe a la presencia de sulfuros en la muestra Relave 1, que explica los porcentajes solubilizados de As (14%) y Fe (7,4%) observados en la etapa de disolución con agua regia. Este resultado confirma la presencia de FeAsS como lo sugieren los análisis de DRX. Para esta muestra, los resultados indican que la arsenopirita es responsable del 14% del As presente. Esto implica que la mayor parte del arsénico se encuentra asociado a otras fases minerales presentes en la muestra. La solubilización del arsénico varió de 15 a 20% en la etapa con acetato, y de 5 a 7,7% en la etapa con ácido fosfórico, debido a la disolución de arsénico débil y fuertemente adsorbido (el intercambiable), respectivamente. La mayor parte del arsénico contenido en estas muestras fue solubilizada en la etapa que usa HCl y SnCl_2 (36,9 a 48,2%), como consecuencia de la disolución de hematita y espinelas (tipo NiFe_2O_4), evidenciando así la diseminación de

arsénico en estas fases (probablemente por sustitución en la estructura cristalina). En la etapa con agua regia, se produjo la solubilización del 14% del arsénico en la muestra Relave 1, como consecuencia de la disolución de arsenopirita; con respecto a la muestra Relave 2, no se produjo liberación de arsénico. Después de todas las etapas de extracción, quedó un 1 - 2% de arsénico en el residuo final.

Prácticamente todo el Fe (76-90%) es solubilizado en la etapa con HCl + SnCl₂, debido a la disolución de hematita y ferritas (Figura 11.4). En cuanto a otros elementos, la mayoría del calcio presente en las muestras es solubilizado en la etapa con acetato (77 a 100%), debido a la disolución de yeso y sulfato de calcio (resultados no mostrados). Estos resultados comprueban la selectividad de los reactivos utilizados.

Además de la arsenopirita, ninguna otra fase con As fue identificada en las muestras por técnicas como DRX. El análisis por microscopía electrónica (MEB/EDS) muestra que el As se presenta diseminado en granos de hematita y no como una fase distinta. Esto también fue comprobado en los ensayos de extracción secuencial, que mostraron que la mayor parte del arsénico (37 a 48% del As total) así como de otros elementos, como Zn, Ni y Mg, se encuentra asociada a las fases hematita y espinelas. Esto significa que el arsénico se presenta diseminado e inmobilizado en las fases insolubles en agua. Por otro lado, cerca de 20 a 28% del As extraído en las etapas de acetato y ácido fosfórico (adsorbido), en especial en la primera, presenta un mayor potencial de movilidad comparado con el As asociado a las fases más insolubles.



- ▨ Ac. acético – fases intercambiables
- ▤ Ac. fosfórico – fuertemente adsorbido
- ⋯ HCl + SnCl₂ – asociado a óxidos cristalinos de Fe
- ▧ Agua-regia - asociado a sulfuros metálicos y espinelas
- Final – residual silicatos

Figura 11.4. Porcentaje de arsénico, hierro y cinc solubilizados en las diferentes etapas de la extracción secuencial para las muestras Relave 1 (a) y Relave 2 (b).

Los residuos sólidos generados en procesos metalúrgicos pueden contener elevadas concentraciones de elementos tóxicos, exigiendo por lo tanto un manejo adecuado que considere su importancia ambiental y de salud pública. Tal es el caso de los residuos arsenicales precipitados a partir de efluentes del tratamiento de minerales refractarios de oro conteniendo arsenopirita. Parte del arsénico de la arsenopirita es incorporada a los óxidos de hierro, y la otra parte es convertida en trióxido de arsénico gaseoso en la etapa de tostación. El lavado de los gases del tostador genera una solución acuosa

ácida conteniendo arsénico. Esta solución se trata con agentes neutralizantes generando un residuo denominado barro o lodo arsenical. Como consecuencia de la metodología empleada para el secuestro del arsénico en solución, los materiales pueden contener *in natura* concentraciones de arsénico hasta del orden de 1 – 10% en peso. Coprecipitados de Fe(III)-As(V) presentando hierro en exceso se consideran productos de la mejor tecnología actualmente disponible para la remoción/disposición del elemento [8], ya sea en procesos de tratamiento de agua para consumo humano como en el tratamiento de efluentes de procesos industriales.

El siguiente ejemplo muestra la aplicación de la extracción secuencial en dos residuos antiguos producidos en el proceso de remoción de arsénico del agua usada en la torre de lavado de los gases de un tostador. El proceso involucra la precipitación de arsénico en presencia de sales de hierro y cal. En este caso, se realizó un cambio en los agentes extractantes utilizados en la extracción secuencial con el fin de identificar las asociaciones de arsénico débil y fuertemente adsorbidos.

El principal objetivo del trabajo fue la identificación de la ocurrencia y forma de asociación del arsénico con las fases presentes, de forma de poder llegar a un análisis más profundo de la estabilidad del residuo con relación al potencial de removilización del arsénico presente. En estos residuos, el yeso es la fase predominante; el contenido de arsénico en los residuos A y B es de 2,27% y en el residuo C es de 3,88%, determinado por análisis químico por AAS. Para ello, se adoptó un protocolo de extracción secuencial según las etapas que se muestran en la Tabla 11.3.

Tabla 11.3. Resumen del protocolo de extracción secuencial desarrollado para el análisis de la asociación del arsénico en muestras de residuos de tratamiento de efluentes de minería [7].

Paso	Fracción	Reactivo	Procedimiento	% As total	
				Depósitos A y B	Depósito C
1	Soluble	600 mL agua desionizada	1 h agitación; T ₂₅	1,5-3,5	1,0-2,0
2	Intercambiable	25 mL NaNO ₃ 1,0 M	1 h agitación; T ₂₅	0,2-0,4	0,1-0,9
3	Soluble a pH 5 (tamponado)	25 mL NaOAc/HOAc (pH 5)	1 h agitación; T ₂₅	1,7-4,7	3,6-6,8
4	Fuertemente adsorbida	25 mL Na ₂ HPO ₄ 0,1M / 1,0 M HCl (pH 5)	1 h agitación; T ₇₀	20-33	22-37
5	Asociada a fases amorfas de Fe y Al	25 mL NH ₂ OH.HCl 0,4 M / 1,0 M HCl 0,25	1 h agitación; T ₅₀	57-75	53-69
6	Asociada a óxidos cristalinos de Fe	25 mL HCl 4,2 M / Ac. asc. 0,66% / o citrato 0,88%	2 h agitación; T ₈₀	0,6-1,2	1,7-6,2*
7	Residual	HCl(c)/HNO ₃ (c)/HF(c) (4:2:2) mL	Digestión en horno de microondas	n.d	n.d.

Notas: T₂₅ = 25 °C , T₅₀ = 50 °C , T₇₀ = 70 °C , T₈₀ = 80 °C ; Ac. asc. = ácido ascórbico; n.d = no detectable, *Valor 6,2%: debido a disolución incompleta.

Estos resultados muestran la diferencia entre el arsénico fácilmente removilizable (pasos 1 a 3), fuertemente adsorbido (paso 4) y coprecipitado en forma de óxidos de hierro amorfos o cristalinos (pasos 5 y 6).

(i) el As se presenta en los residuos predominantemente como arseniato de hierro amorfo, (solubilizado en el paso 5, **57-75%As_{total}** en los depósitos A y B y **53-69%As_{total}** en el depósito C)

(ii) y como arseniato fuertemente adsorbido en oxihidróxidos de hierro, (solubilizado en el paso 4, **20-33%As_{total}** en los depósitos A y B y **22-37%As_{total}** en el depósito C).

El yeso correspondió a la fase predominante, ya que una lixiviación acuosa y extensa de esta fase redujo hasta un 70% la masa bruta de los residuos. En este caso, el potencial de liberación de arsénico fue igual o inferior a 3,5%As_{total} (arsénico potencialmente móvil). Se utilizó espectroscopía XANES para la identificación del estado de oxidación del arsénico en los residuos, teniendo en cuenta la menor movilidad y toxicidad de la especie pentavalente. Los resultados indicaron que el arsénico se presentaba esencialmente como especie As(V) en fase sólida.

Este estudio de caso demostró que protocolos de extracción secuencial constituyen una eficiente herramienta práctica para evaluar la movilidad de tales elementos a partir de residuos sólidos, ya que fueron adecuadamente adaptados a la matriz de los materiales investigados, y confirmados por diversas técnicas analíticas instrumentales.

11.3.2. Identificación de arsénico adsorbido en muestras de óxidos e hidróxidos de hierro de baja cristalinidad

Los óxidos e hidróxidos de hierro amorfos, sintetizados según la referencia [9], ferrihidrita (Fe(OH)₃) y ferroxihita (δ -FeOOH), fueron seleccionados para ilustrar la identificación de trazas de arsénico en muestras típicas de suelos, relaves y en productos de tratamiento de efluentes donde la asociación hierro-arsénico es dominante. La identificación de estos óxidos de hierro generalmente se dificulta por su naturaleza amorfa (Figura 11.5). Sin embargo, estas fases de hierro se identifican generalmente en los lodos producidos en los procesos de precipitación de arsénico con hierro, en productos de la oxidación de hierro cerovalente o en materiales adsorbentes. Los óxidos fueron sometidos a ensayos de adsorción de As(III) y As(V), en forma separada. Los experimentos se hicieron a pH 5,5, con agitación por 24 h, y usando 43,3 mg g⁻¹ de ferroxihita ó 56,7 mg g⁻¹ de ferrihidrita (sintetizada en medio nitrato). Luego se realizaron análisis por espectroscopía Raman e IR. En este último caso, se usó IR de reflectancia difusa (DRIFT), preparando las muestras por mezcla de 8 mg en 40 mg de KBr [10].

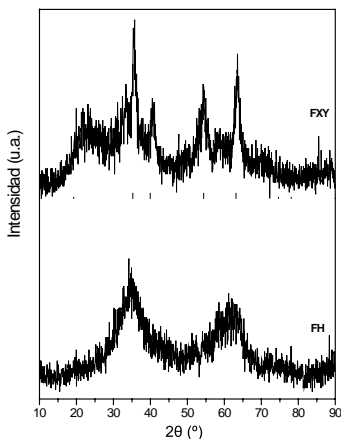


Figura 11.5. Difractogramas de rayos X para los óxidos e hidróxidos de hierro sintetizados: ferroxihita (FXY) y ferrihidrita 2-líneas (FH).

Los espectros Raman para la muestra sintetizada de ferrihidrita 2-líneas conteniendo arsénico adsorbido, se presentan en la Figura 11.6. Los espectros Raman de la ferrihidrita ($\text{Fe}_3\text{HO}_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) y ferroxihita ($\delta\text{-FeOOH}$) exhiben bandas anchas, típicas de materiales de baja cristalinidad, y permiten identificar, con precisión, éstos y otros óxidos e hidróxidos de hierro. El espectro Raman de la ferrihidrita sintética exhibe bandas anchas a 358, 513, 676 y 722 cm^{-1} , que corresponden a las citadas en la literatura [11]. Los espectros de las muestras conteniendo arsénico adsorbido exhiben una banda ancha centrada a los 840 cm^{-1} . En el caso de las muestras cargadas con As(V), las bandas se muestran más evidentes e intensas comparadas con las de las muestras cargadas con As(III), a pesar de que las mismas presentan cargas de arsénico semejantes. La espectroscopía Raman es adecuada para la identificación de las especies adsorbidas de arsénico, en concentraciones medias superiores a 3%. Este límite es reducido cuando existe heterogeneidad aparente y la fase conteniendo arsénico puede ser seleccionada por observación al microscopio (espectroscopía micro-Raman).

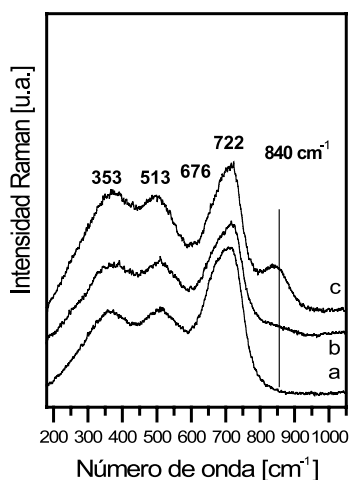


Figura 11. 6. Espectros Raman de muestras de ferrihidrita sometidas a ensayos de adsorción con arsénico a pH 5,5. Ferrihidrita pura (a), ferrihidrita con As(III) adsorbido (b), ferrihidrita con As(V) adsorbido (c) [10].

La espectroscopía Raman no permite la identificación de las especies arsenito y arseniato en sólidos, ya que ambas presentan una banda típica a 840 cm^{-1} . La presencia de esta banda en ambas muestras cargadas podría sugerir la oxidación del As(III) durante el ensayo de adsorción. Sin embargo, esta hipótesis fue excluida por análisis XANES.

Las espectroscopías Raman e IR son técnicas complementarias. El espectro IR exhibe como banda característica de las moléculas el modo vibracional asimétrico ν_3 . Por su parte, en el Raman, la banda característica corresponde al modo vibracional simétrico ν_1 . Las muestras ferroxihita (no mostrado) y ferrihidrita, puras y cargadas con arsénico, fueron analizadas por la técnica de infrarrojo de reflectancia difusa, que es más sensible para la identificación de compuestos adsorbidos. La Figura 11.7 ilustra los espectros obtenidos por infrarrojo para la muestra de ferrihidrita. En el caso de las muestras cargadas con As(V), se observa la presencia de una banda intensa, cuyo ajuste resultó en 800, 834 y 880 cm^{-1} , que corresponde al desdoblamiento del modo vibracional ν_3 , triplemente degenerado. La presencia de este triplete sugiere la formación de un complejo de arseniato bidentado en la superficie de los óxidos/hidróxidos de hierro, el que está de acuerdo con la estructura ampliamente aceptada de adsorción de la especie arseniato

en óxidos de hierro [12]. Los espectros IR de las muestras de ferrihidrita y ferroxihiita cargadas con As(III) son claramente diferentes, con un único pico centrado en 790 cm^{-1} . Los resultados demuestran que la técnica de espectroscopia IR permite la identificación de las especies arseniato y arsenito adsorbidas en óxidos de hierro.

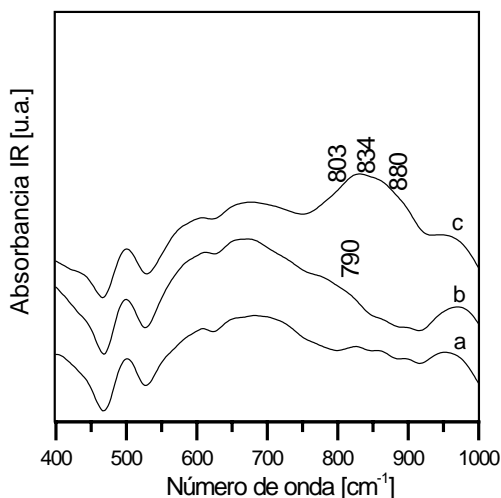


Figura 11.7. Espectro infrarrojo de reflectancia difusa para la muestra ferrihidrita con arsénico adsorbido en pH 5.5: ferrihidrita pura (a), ferrihidrita con As(III) adsorbido (b), ferrihidrita con As(V) adsorbido (c) [10].

11.3.3. Determinación de la especiación de arsénico en medio acuoso utilizando micro-columnas de extracción en fase sólida

La evaluación de la especiación de arsénico en medios acuosos es de gran importancia debido a los diferentes niveles de toxicidad exhibidos por las distintas especies presentes, así como sus diferentes respuestas a los métodos de remediación [13]. Durante el estudio de la especiación, la preparación de la muestra es uno de los pasos más importantes, ya que es fundamental preservar su composición original y el estado de oxidación de las especies presentes. En este contexto, entre varias técnicas que han sido evaluadas, la separación empleando la extracción en fase sólida (SPE) ha mostrado ser la más adecuada para evaluar la distribución de las especies arsenicales (es decir, As(V) y As(III)) en muestras acuosas [14-16].

Las micro-columnas para SPE conteniendo resinas de intercambio aniónico han sido ampliamente utilizadas para la separación de especies arsenicales en medio acuoso, basándose en la retención de las especies pentavalentes, As(V). Por tratarse de un proceso de intercambio aniónico, para un buen desempeño de dichas micro-columnas se requiere evitar la presencia de otros aniones en el medio acuoso, o por lo menos minimizarla, antes de su aplicación. Esto sucede porque la retención de As(V) por resinas de intercambio aniónico no es específica y puede ser altamente perjudicada por la presencia de otros aniones en el medio, que actúen como competidores de los aniones derivados del ácido arsénico (H_2AsO_4^- , HAsO_4^{2-} y AsO_4^{3-}). Uno de los aniones más comúnmente encontrados en efluentes de minería es el ion sulfato, y la Figura 11.8 muestra que una micro-columna comercial conteniendo un intercambiador aniónico no fue capaz de retener eficientemente el As(V) con concentraciones de sulfato cercanas a 250 mg L^{-1} [17]. De acuerdo con lo observado, la utilización de estas resinas de intercambio aniónico se

muestra como inadecuada para especiación de arsénico en medios acuosos complejos y multicomponentes, y se vuelve relevante el desarrollo de metodologías que posibiliten el trabajo con este tipo de sistemas.

Una opción promisoría para la retención específica de la especie trivalente de arsénico se reporta en el trabajo de Teixeira y Ciminelli [18], que demostró por primera vez la gran afinidad de los grupos tiol (-SH) por el As(III) en medio ácido. Este resultado llevó a la hipótesis de que especies de As(III) pueden ser similarmente inmobilizadas por resinas tiólicas conteniendo el grupo sulfhidrilo (-SH) como grupo funcional. Así, en un trabajo posterior, Duarte [19] estudió la inmobilización de As(III) por una resina tiólica, la cual se mostró capaz de retener eficientemente el As(III) en todo el rango de pH evaluado (de 3 a 10). El análisis XANES demostró que el arsénico retenido en la resina tiólica no se oxidó durante el proceso de adsorción (Figura 11.9) [19].

Una vez comprobada la capacidad de retención del As(III) por resinas tiólicas, se desarrolló una nueva micro-columna de extracción en fase sólida para especiación de As. Una ventaja práctica del uso de estas resinas es su especificidad con relación al As(III), siendo menos afectada por la presencia de iones competidores en solución. Tal especificidad se evidencia en la Figura 11.10, donde se nota que la inmobilización del As(III) en resina tiólica no fue afectada por la presencia de iones sulfato en ninguna de las concentraciones estimadas.

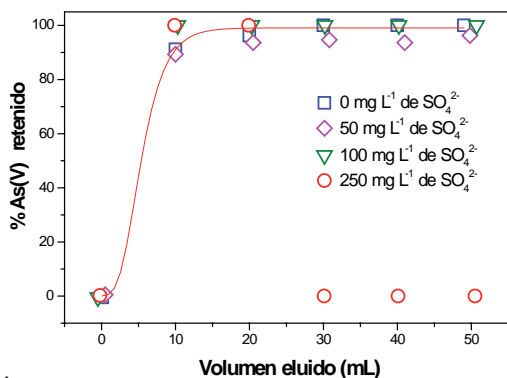


Figura 11.8. Desempeño de micro-columna comercial conteniendo intercambiador aniónico para inmobilización de As(V): efecto de la presencia de iones sulfato [17].

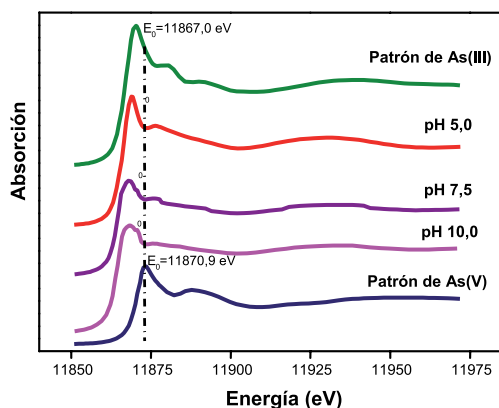


Figura 11.9. Espectros XANES para patrón de As(V) ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); patrón de As(III) (NaAsO_2) y As(III) adsorbido en resina tiólica a pH 5,0, 7,5 y 10,0 [19].

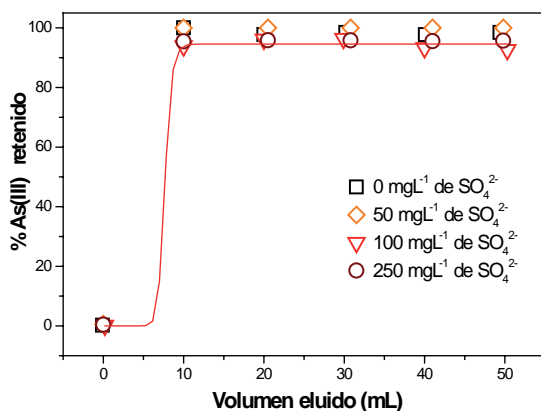


Figura 11.10. Desempeño de micro-columna conteniendo resina tiólica para inmovilización de As(III): efecto de la presencia de iones sulfato [19].

Así, el nuevo sistema surge como una alternativa interesante a las micro-columnas conteniendo resinas de intercambio iónico que se usan actualmente para la especiación de arsénico, pues viabiliza el trabajo con sistemas complejos y multicomponentes. Comprobando tal viabilidad, se realizó un análisis de especiación de As en el agua de la represa de relaves de la empresa *Rio Paracatu Mineração* (RPM) utilizando el nuevo sistema (micro-columna conteniendo resina tiólica) y un producto comercial (LC-SAX, Supelco, PA - Bellefonte). En primer lugar, la muestra de agua recogida en la represa fue filtrada usando membrana de 0,45 μm y luego se agregaron 30 μL de EDTA (0,10 mol L^{-1}) por cada 10 mL de muestra filtrada [20]. Esta muestra fue recogida en la superficie de la represa, presentando un pH cercano a 7,0 y un Eh cercano a 200 mV. El sulfato fue el ion más abundante encontrado en solución, en una concentración de aproximadamente 500 mg L^{-1} . Debido a la alta concentración de iones, la muestra filtrada fue diluida en la proporción de 1:10 antes de ser pasada por las micro-columnas. La concentración total de As en el agua de la represa de relaves de la RPM fue cuantificada en 13,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, utilizando ICP-MS. En cuanto a la especiación, los ensayos fueron hechos por triplicado y mediante el sistema con la resina tiólica fue posible verificar que, para la muestra analizada, aproximadamente 20% del arsénico total se encontraba en la forma trivalente. La micro-columna comercial conteniendo sílice impregnada con amina cuaternaria como grupo funcional (intercambiador aniónico) no fue capaz de retener eficientemente el As(V) (en forma de HAsO_4^{2-} en el pH estudiado) debido a la interferencia de otros aniones, como sulfato, presentes en el medio.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del *Laboratório Nacional de Luz Síncrontron* (LNLS), *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq), *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) y *Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais* (FAPEMIG). Los autores agradecen, en particular, a la Dra. Marta Litter el trabajo realizado en la traducción al español, indispensable para la publicación de este capítulo. Los autores pertenecen al INCT (Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia: Recursos Minerais, Água e Biodiversidade).

REFERENCIAS

- [1] Woolfson, M.M: *An introduction to X-ray crystallography*. 2nd Ed. Cambridge: University Press., 1997.
- [2] Smith, B.C.: *Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach*, CRC Press LLC, Florida, EE.UU., 1999, Capítulo 1.
- [3] Ferraro, J.R., Nakamoto, K., Brown, C.W.: *Introductory Raman Spectroscopy*, 2nd edition, Academic Press, (2003), Chapter 1.
- [4] Koningsberger, D.C. y Prins, R.: *X-Ray Absorption*, John Wiley & Sons, NY (1988).
- [5] Hall, G.Y.M.: Analytical perspective on trace element species of interest in exploration. *J. Geochemical Exploration* 61, (1998), págs.. 1-19.
- [6] Pantuzzo, F.L.: *Fixación de arsénico en residuos de la mineración de oro: mecanismo y aplicación*. UFMG/CPGEM: Belo Horizonte, MG. Dissertação de Mestrado. Orientador: Virgínia S. T. Ciminelli, (2008), 176 págs...
- [7] Pantuzzo, F.L.; Ciminelli, V.S.T.; Braga, I. Especiación del arsénico en lamas arsenicales. In: *VII Meeting of the Southern Hemisphere on Mineral Technology. XXII Encontro Nacional de Tratamiento de Minérios y Metalurgia Extrativa*. Eds: Lima, R. M. F.; Ladeira, A.C.Q.; Silva, C.La.; Caldeira, C.L.; Gameiro, D.H.; Drumond, Y.; Luz, J. A. M.; Teixeira, M.C.; Galery, R.; Leão, V. A. Oro Preto – Brazil, II, 2007, págs. 107- 114.
- [8] EPA.: Technologies and costs for removal of arsenic from drinking water. *US Environmental Protection Agency*, (2000), *EPA/815/R-00/028*.
- [9] Schwertmann, U., Cornell, R.M.: *Iron Oxides in the Laboratory*. 2nd Ed. Weinheim: Wiley-VCH. (2000): 187 págs.
- [10] Müller, K.: Mechanism of Arsenic Adsorption on Iron oxi-hydroxides. Universidad Técnica de Dresden, Alemania, (2005), págs.118.
- [11] Mazzetti, L. y Thistlethwaite, P.J. Raman spectra and thermal transformations of ferrihydrite and schwertmannite. *J. Raman Spectr.* 33 (2002) págs.. 104-111.
- [12] Sherman, D.M., Randall, S.R.: Surface complexation of arsenic(V) to iron(III) (hydr)oxides: Structural mechanism from ab initio molecular geometries and EXAFS spectroscopy. *Geochim. et Cosmochim. Acta* 67 (2003), págs. 4223.
- [13] Kumaresan, M. y Riyazunddin, P.: Overview of speciation chemistry of arsenic: *Current Sci.*, 80 (2001), págs. 837-846.
- [14] Camel, V.: Solid phase extraction of trace elements. *Spectrochimica Acta - Part B* 58 (2003), págs. 1177–1233.
- [15] Gong, Z.; LU, X.; MA, M.; Watt, C. y Le, X. C.: Arsenic speciation analysis. *Talanta* 58 (2002), págs. 77–96
- [16] Liska, I.: Fifty years of solid-phase extraction in water analysis – historical development and overview. *J. Chromat. A* 885 (2000), págs. 3–16.
- [17] Duarte, G.: *Arsenic speciation in aqueous environment by As(III) and As(V) immobilization onto different solid phase extraction systems*. Dissertação de mestrado apresentada al Curso de Pós-Graduação en Engenharia Metalúrgica y de Minas de la UFMG, (2006).
- [18] Teixeira, M. C. y Ciminelli, V. S. T. Development of a Biosorbent for Arsenite: Structural Modeling Based on X-ray Spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005), págs. 895-900.
- [19] Duarte, G., Teixeira, M.C., Ciminelli, V.S.T.: Arsenite immobilization onto a modified thiol chelating resin: pH dependence evidenced by XAS In: *VII Meeting of the Southern Hemisphere on mineral Technology / XXII Encontro Nacional de Tratamiento de Minérios y Metalurgia Extrativa*, Oro Preto, 2, 2007, págs.11.
- [20] Vasconcelos, F.M.; Ciminelli, V.S.T.; Oliveira, R.P. e Silva, R.J.: Determinação da especiação química e potencial de mobilidade do arsênio em sítios de mineração. *Geochimica Brasiliensis*, 18 (2004), págs. 115-120.

Índice I: Autores

- Jorge Acarapi

Laboratorio de Investigaciones Medioambientales de Zonas Áridas, Limza, Avenida General Velásquez 1775, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Tarapacá, Arica-Chile
e-mail: jacarapi@gmail.com

- Alves Ferreira Maria Adelaide

Instituto Nacional de Engenharia Tecnologia e Inovação, I.P. Laboratório do Porto, R. da Amieira, Ap. 1089; 4465-956 S. Mamede de Infesta, Portugal
e-mail: adelaide.ferreira@ineti.pt.

- María Aurora Armienta

Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Geofísica, Circuito Exterior, C.U. México 04510, D.F., México
e-mail: aurora.armienta@gmail.com

- Haydn Barros

Laboratorio de Física Nuclear, Universidad Simón Bolívar. FE1. P.B. Sartenejas, Baruta. Apdo. 89000, Caracas 1080A
e-mail: hbarros@usb.ve

- Cláudia L. Caldeira

Laboratório de Processamento Aquoso Departamento de Enga. Metalúrgica e de Materiais Av. Antonio Carlos, 6627 Campus- Pampulha, Escola de Engenharia/UFMG - Bloco 2 - s/3421, 31270-901 - Belo Horizonte - MG – Brasil
e-mail:claudia@demet.ufmg.br

- María Luisa Castro de Esparza

Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente CEPIS/SDE/OPS/OMS. Calle Los Pinos 251, Urb. Camacho, La Molina –Lima 12. Perú P.O. Box 4337-4337- Lima 100 – Perú
e-mail: mesparza@per.ops-oms.org

- Virginia S.T Ciminelli

UFMG - Escola de Engenharia – Depto. Engenharia Metalúrgica e de Materiais. Av. Antonio Carlos 6627, Bloco 2 - s/3633, Campus – Pampulha. 31270-901 - Belo Horizonte - MG – Brasil
e-mail: ciminelli@demet.ufmg.br.

- Giovanna Clavijo

Cátedra de Toxicología e Higiene Ambiental, Facultad de Química, Gral. Flores 2124,

11800 Montevideo, Uruguay
e-mail: gclavijo@fq.edu.uy

- Gabriela Cordeiro Silva
Laboratório de Processamento Aquoso, Departamento de Enga. Metalúrgica e de Materiais
Av. Antonio Carlos, 6627 Campus- Pampulha Escola de Engenharia/UFMG - Bloco 2 -
s/3242 31270-901 - Belo Horizonte - MG - Brasil
e-mail: gcsilva25@hotmail.com

- Lorena Cornejo
Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Campus Velazquez, Gral. Velásquez
#1775, Arica, Chile. Laboratorio de Investigaciones Medioambientales de Zonas Áridas,
LIMZA Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto, CIHDE/CODECITE
Universidad de Tarapacá, Avenida General Velásquez 1775 oficina 18 Arica-Chile
e-mail: laboratoriolimza@gmail.com, lorenacp@uta.cl

- Laura Díaz
Cátedra de Toxicología e Higiene Ambiental, Facultad de Química, Gral. Flores 2124,
11800 Montevideo, Uruguay
e-mail: ldiaz@fq.edu.uy

- Grazielle Duarte
Laboratório de Processamento Aquoso, Departamento de Enga. Metalúrgica e de
Materiais, Av. Antonio Carlos, 6627 Campus-Pampulha, Escola de Engenharia/UFMG -
Bloco 2 - s/3242, 31270-901 - Belo Horizonte - MG - Brasil.

- Silvia S. Farías
Gerencia de Química, Comisión Nacional de Energía Atómica, Av. Gral. Paz 1499, (1650)
San Martín, Prov. de Buenos Aires, Argentina
e-mail: farias@cnea.gov.ar, fariassilvias@gmail.com

- Litter Marta I.
Gerencia Química, Centro Atómico Constituyentes, Comisión Nacional de Energía
Atómica, Av. Gral. Paz 1499, San Martín, 1650, Prov. de Buenos Aires, Argentina
e-mail: litter@cnea.gov.ar

- Clara M. López
Cátedra de Toxicología y Química Legal-Facultad de Farmacia y Bioquímica-Universidad
de Buenos Aires, Junín 954, Buenos Aires, Argentina
e-mail: cmlopez@ffyb.uba.ar.

- Nelly Mañay
Cátedra de Toxicología e Higiene Ambiental, Facultad de Química, Gral. Flores 2124,
11800 Montevideo, Uruguay
e-mail: nmanay@fq.edu.uy

- María Eugenia Morgada
Gerencia Química, Centro Atómico Constituyentes, Comisión Nacional de Energía

Atómica, Av. Gral. Paz 1499, San Martín, 1650, Prov. de Buenos Aires, Argentina
e-mail: mariaeugenia.morgada@gmail.com

- Vilma Mori

Jr. Ausangate 430 Dpto. 502 San Miguel, Lima 32 –Perú

- Katharina Müller

Forschungszentrum Dresden-Rossendorf e.V., Institute of Radiochemistry, P. O. Box 510119, 01314 Dresden / Alemania

- Fernando Luiz Pantuzzo

Golder Associates Brasil Consultoria e Projetos Ltda., R. dos Inconfidentes 1011 - 7º andar, Bairro Funcionários, Belo Horizonte - MG, 30.140-120, Brasil
e-mail: fpantuzzo@golder.com.br.

- Regina Pinto de Carvalho

Centro de Microscopia da UFMG, Av. Antonio Carlos, 6627, Belo Horizonte, MG - Brasil
e-mail: reginapc@fisica.ufmg.br

- Adriana E. Piñeiro

Cátedra de Toxicología y Química Legal-Facultad de Farmacia y Bioquímica-Universidad de Buenos Aires, Junín 954, Buenos Aires, Argentina
e-mail: apineiro@ffyba.uba.ar

- Adriana H. Sassone

Cátedra de Toxicología y Química Legal-Facultad de Farmacia y Bioquímica-Universidad de Buenos Aires, Junín 954, Buenos Aires, Argentina
e-mail: asassone@ffyba.uba.ar

- Julio C.J. Silva

Depto. de Química, DEQ, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, CCE Universidade Federal de Viçosa, UFV, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, Viçosa - MG •CEP: 36570-000, e-mail: silvacj@yahoo.com.br

- Maria Sylvia Silva Dantas

Laboratório de Espectroscopia Raman, Departamento de Enga. Metalúrgica e de Materiais, Av. Antonio Carlos, 6627 Campus- Pampulha, Escola de Engenharia/UFMG - bloco 2 - s/3423, 31270-901 - Belo Horizonte - MG – Brasil
e-mail: mssd@demet.ufmg.br

- Mônica Cristina Teixeira

Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto/UFOP, Rua Costa Sena, 171. Centro, Ouro Preto, MG - CEP35400-000
e-mail: ciminelli@demet.ufmg.br

- María Wong

Calle Los Olivos 257 Dpto. 303, San Isidro, Lima 27- Perú.

Índice II: Palabras clave

A

- AB 19, 23, 24, 25, 26, 27
 absorbancia 45, 48, 49, 50, 52, 54, 57,
 58, 65, 70, 74, 80, 84, 85, 225
 absorción atómica 188
 absorción atómica con generación de
 hidruros 16, 66, 67, 150, 183
 absorción atómica con horno de grafito
 acoplados a generador de hidruros
 189
 absorción atómica-generación de
 hidruros 65
 absorción de fondo 6, 82, 83, 84, 85
 absorption edge 214
 AC 19, 23, 24, 25, 26, 27
 acción microbiana 25
 aceites de pescado 25
 acetato de plomo 53, 54, 55, 57, 58, 59,
 ácido arsenioso 21
 ácido ascórbico 33, 52, 69, 71, 73, 89,
 90, 222
 ácido dimetilarsenioso 19
 ácido dimetilarsínico 19
 actividad biológica 19, 22, 26, 175
 actividades antropogénicas 19
 actividad microbiana 20, 26, 31, 32,
 142, 143, 144
 acuoporinas 27
 adición estándar 5, 61, 88, 163, 204, 207
 Adición estándar 61
 AgDDTC 53
 agente lixiviante 218
 aguas geotermales 22
 aguas marinas 22, 26
 aguas naturales 10, 20, 21, 26, 27, 31,
 52, 142, 162, 163, 165, 168, 176,
 182, 188, 189, 190, 191, 195, 196
 aguas subterráneas 21, 22, 30, 31, 151
 aguas superficiales 22, 26, 216
 algas 24, 25, 143
 almejas 25
 ambientes reductores 22
 análisis cuantitativo 48, 95, 130, 159,
 188
 análisis de difracción de rayos X 13, 211
 análisis voltamétrico 185, 188, 191
 analito 17, 29, 31, 48, 49, 58, 60, 65, 66,
 75, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87,
 95, 98, 99, 101, 110, 119, 121, 127,
 134, 135, 141, 142, 143, 144, 145,
 146, 147, 148, 151, 152, 162, 163
 ángulo de incidencia del haz 212
 annabergita 23
 antorcha 97, 98, 101, 105, 106, 115,
 116, 120, 127, 128, 133
 argón 7, 16, 17, 67, 68, 69, 71, 72, 93,
 95, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103,
 105, 107, 109, 110, 111, 114, 115,
 116, 117, 120, 125, 126, 128, 135,
 147, 191, 192, 195, 196, 198, 202
 arseniato 19, 20, 22, 23, 26, 27, 144,
 216, 223, 224, 225
 arsénico cerivalente 22
 arsénico total 3, 11, 16, 31, 60, 74, 141,
 163, 164, 165, 168, 170, 171, 172,
 175, 176, 177, 181, 182, 183, 191,
 227
 arsénico y sus especies 31, 145, 216
 arsenito 19, 20, 22, 23, 27, 144, 148,
 224, 225
 arseniuros 22
 arsenoazúcares 19, 23, 24, 25, 145, 148,
 150
 arsenobetaína 19, 23, 24, 25, 144, 148,
 150
 arsenocolina 19, 23, 24, 25, 144, 150
 arsenolípidos 19, 23, 25, 27, 145
 arsenolita 23
 arsenopirita 23, 216, 218, 219, 220, 221,
 233
 arsenopirita (FeAsS) 216

arsina 22, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 67, 194
arsina (AsH_3) 54, 66
 $\text{As}(0)$ 20, 193, 194
 As_2O_3 23, 57, 166, 173, 179, 194, 197
 As_2S_3 22, 23
 AsH_3 54, 66, 193, 194
 $\text{As}(-\text{III})$ 20
asimetría 212
As inorgánico pentavalente 22, 26
As nativo 22, 23
 AsO_3^{3-} 20
 AsO_4^{3-} 20
aspergillus 26
AsS 22, 23
átomos vecinos 211, 215
automatización 67, 78, 100, 140
auxocromo 47

B

bacillus 26
bacterias 26, 142
barro 222
biocidas 23
biodisponibilidad 27, 140, 216
blancos analíticos 61, 77, 109, 121, 137, 169
bobina 97, 98, 115, 116, 132
borde 116, 214, 215
borohidruro de sodio 66, 67, 68, 69, 71, 72
bromuro de mercurio 52
 β -caroteno 47, 234

C

$\text{CaCu}(\text{AsO}_4)(\text{OH})$ 23
cal 37, 222
calcinación 80, 84, 87
calcinado 80
calcopirita 22
cámara de expansión 116, 117
cámara de nebulización 114, 119, 120, 126, 133
camarones 25
camino libre medio 215
campo eléctrico de la luz 214
canto 214

carbonatos 23, 218
carburos 85
cartas de control 10, 60, 62, 76, 77, 109, 137, 170, 176, 182
cartas de control trazas de arsénico 60, 76
catión tetrametilarsonio 19, 25
catión trimetil-2-hidroxiethylarsonio 25
CCD 50
CCT 117, 123
célula de colisión (CCT) 117
célula de reacción 123
células 24, 25, 50, 141
 CH_3AsH_2 24
 $\text{CH}_3\text{As}(\text{SR})_2$ 24
 $(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$ 24
 $(\text{CH}_3)_2\text{As}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 24
 $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$ 24
 $(\text{CH}_3)_2\text{AsSR}$ 24
 $(\text{CH}_3)_3\text{As}$ 24
 $(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 24
 $(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$ 24
 $(\text{CH}_3)_3\text{AsO}$ 24
 $(\text{CH}_3)_3\text{AsO}(\text{OH})_2$ 24
 $(\text{CH}_3)_4\text{As}^+$ 24
cianuración 218
cinc 52, 53, 54, 55, 57, 58, 59, 66, 161, 221
claudetita 23
clorita 218, 219
cloruro de estaño(II) 53
 CO_2 67, 191
CoAsS 23
cobaltita 23
coeficiente de absorción molar 49, 65
coeficiente de difusión 186
complejo 32, 44, 52, 53, 54, 58, 59, 98, 140, 212
complejo de arseniato bidentado 224
compuestos del arsénico 145
concentración 121
condiciones oxidantes 21, 22, 216
condiciones redox 20, 22, 27, 31, 33
condiciones reductoras 21, 22, 141, 216
conicalcita 23
cono 115, 116, 117
cono de muestreo 116, 117, 133
conservantes de la madera 19

control de blancos 6, 7, 8, 9, 10, 12, 61, 77, 92, 108, 109, 137, 169, 176, 182, 207
control de calidad 38, 60, 61, 63, 75, 76, 77, 78, 136, 137, 138, 169, 176, 182, 204, 205
control de la exactitud 5, 6, 8, 9, 10, 12, 61, 76, 108, 136, 169, 176, 182, 205
control de la precisión 5, 6, 8, 9, 10, 12, 61, 76, 108, 137, 169, 176, 182, 205
convección 186
corriente de capacitancia 186
corriente faradaica 186, 187
corriente límite de difusión 185
cristalito 212
cromatografía iónica 148, 189
crustáceos 25
 Cu_3AsS_4 23
cuaderno de disposición de muestras y extractos 60, 75
cuaderno de mantenimiento de los equipos 60, 75, 204
cuaderno de no conformidades 60, 75
cuaderno de toma de muestras 60, 75
cuadrupolo electromagnético 117
cuanto de radiación 43
cuarzo 50, 66, 68, 69, 70, 72, 97, 103, 114, 115, 120, 218, 219
cuerpo negro 83
 $(\text{Cu,Fe})_{12}\text{As}_4\text{S}_{13}$ 23
curvas de calibración 121, 122, 123, 157

D

deformación 44
diagrama Eh-pH 20, 216
dienos conjugados 47
dietilditiocarbamato de plata 52, 53, 54, 55, 57, 58, 59, 63
diferencia de potencial 118, 185
difracción y fluorescencia de rayos X 189
difractograma 212
difractometría 211
digestión 3, 4, 29, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 58, 59, 67, 161, 171, 177, 220, 222
dimetilsinoiletanol 24, 25
diode array 51, 63
dispersantes de la luz 214

dispersión 22, 83, 110, 147, 159, 183, 211, 213, 214
dispersión inelástica de luz 213
dispersión Raman 211, 213, 214
dispersión Rayleigh 213
distancias interatómicas 215
DMA 24, 25, 26, 27, 144, 150, 151
DMA(III) 19, 25
DMA(V) 19, 23
doble haz 50, 70
dolomita 218, 219
DRIFT 223
DRX 212, 218, 220, 221

E

ecuación de Bragg 212
ecuación de Ilkovic 185, 186,
ecuación de Planck 43, 44
EDTA 32, 33, 39, 40, 227
EDXRF 164, 165, 166, 171, 172, 174, 177, 178, 180
efecto batocrómico 47
efecto hiperocrómico 47
efecto hipocrómico 47
efecto hipsocrómico 47
efecto Raman 213
efecto Zeeman 82, 85
efedrina/cloroformo 53
Eh 20, 22, 28, 31, 40, 216, 227
electrodo de gota de mercurio (DME) 185
electroforesis capilar 140, 146, 189
electrolito soporte 186, 189
electrones de no enlace 45
electrooxidación 185
electrorreducción 185
elemento químico 31, 214, 217
emisiones volcánicas 19
emisión óptica con plasma 188
enargita 23
energía cinética 214
enlaces químicos 44
enlaces 45, 47, 145
entorno del átomo 211, 217
escorodita 23
espaciado entre los planos en el cristal 212
especiación de arsénico inorgánico en

- aguas naturales por SW-CSV con el electrodo HMDE 189
 - especiación de complejos metálicos y organometálicos 145
 - especiación de elementos traza 140
 - especiación de especies arsenicales 150
 - especiación de organometálicos 145
 - especiación elemental 9, 139, 144, 149, 151
 - especiación inorgánica y organometálica 139
 - especie electroactiva 186
 - especie monoatómica 44
 - especies arsenicales 16, 17, 26, 27, 101, 140, 143, 144, 147, 148, 150, 151, 225
 - especies de arsénico 30, 31, 142, 149
 - especies organometálicas 139, 144
 - espectro electromagnético 43, 44, 49, 211
 - espectrofotometría ultravioleta – visible (UV-Vis) 43
 - espectrofotómetro de arreglo de diodos 4, 51
 - espectrofotómetro UV-Vis 4, 49, 50, 51, 57
 - espectro infrarrojo 212, 213, 225
 - espectrometría de absorción atómica con horno de grafito 189
 - espectrometría de masa con plasma 189
 - espectrometría por emisión atómica 116
 - espectrómetro de emisión atómica mediante plasma inductivo de argón 93
 - espectrómetros 98, 105, 107, 122, 147, 157, 159, 162
 - espectroscopía de absorción atómica 17, 65, 67
 - espectroscopía de absorción de rayos X 13, 211, 213, 214, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227
 - espectroscopía de emisión – plasma inductivo de argón 7, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 110, 111
 - espectroscopía de extracción secuencial 211
 - espectroscopía infrarroja 13, 211, 212, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227
 - espectroscopía Raman 13, 213, 214, 217, 223, 224, 231
 - espín electrónico 44
 - estado de oxidación 20, 171, 177, 188, 191, 211, 215, 217, 223, 225
 - estados excitados 94, 157, 211
 - estéril (rechazo de minería) 216
 - EXAFS (Extended X-Ray Absorption Fine Structure) 215, 228
 - excitado 44, 157, 158, 159, 216
- ## F
- farmacosiderita 23
 - $\text{Fe}_3(\text{AsO}_4)_2(\text{OH})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 23
 - $\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 23
 - FeAsS 23, 216, 218, 220
 - feldespato 218, 219
 - ferrihidrita 2-líneas 223, 224
 - ferrihidrita ($\text{Fe}(\text{OH})_3$) 223
 - ferritas 221
 - ferroxihita ($\delta\text{-FeOOH}$) 223
 - fias 5, 67
 - FIAS 5, 67, 68, 70, 72, 74, 78
 - fitoplancton 26
 - fitoquelatinas 27
 - flujo de masa 186
 - formas arsenicales 3, 17, 19, 21, 23, 25, 27
 - formas metiladas de As(III) 19
 - formas metiladas de As(V) 19
 - formato de preparación de estándares de calibración y control 60, 65
 - formato de preparación de reactivos 60, 65
 - fosfatos 22, 52
 - fotodiodos 50, 51
 - fotoelectrón 155, 156, 214, 215
 - fotón 43, 45, 155, 157
 - fotón dispersado 213
 - fotón incidente 156, 213, 214
 - fracción organometálica 145
 - frecuencias 213
 - fuelle continua 84, 85
 - fuelle de rayos X sintonizable en energía 216
 - fuentes de luz sincrotrón 216
 - fuentes naturales 19
 - función de distribución radial 215

función de onda 215
fundición de metales 19

G

galena 22
gas portado 66
gasterópodos 25
genotóxico 25
grado de desorden 215
granulometría 34, 171, 177, 217
grupos funcionales 44, 45, 147, 148,
162, 211, 213
grupos metilo 25

H

$H_2AsO_3^-$ 20
 $H_2AsO_4^-$ 20
 H_3AsO_3 20
 H_3AsO_4 20
 $H_4AsO_3^+$ 20
 $HAsO_3^{2-}$ 20
 $HAsO_4^{2-}$ 20
 $HAsS_2$ 22
haz incidente 48, 211, 213, 215
haz simple 50
hematita 218, 219, 220, 221
hematolita 23
herbicidas 22, 24, 26
hidrocarburos 45, 146
hidróxido férrico 22
hoernesita 23
hongos 26
hyphenated techniques 9, 140, 141

I

identificación de fases 214
incertidumbre 62
infrarrojo cercano 212
infrarrojo lejano 212
infrarrojo medio 212
insaturaciones 46
intensidad 48
intensidad capacitiva 187
intensidad de corriente 185
intensidad de la luz 65
intensidad de luz incidente 65
interferencia 215

interferencias 83, 195
interferencias espectrales 83
interferencias no espectrales 83
in vitro 25
ion 44
ionización 116
ionizaciones 44
IR de reflectancia difusa 223
isótopos 113

K

$KMnO_4$ 52

L

lámpara de arco de deuterio 50
lámpara de cátodo hueco 65, 66, 81, 84,
90
lámpara de descarga sin electrodo 66
lámpara de deuterio 84, 88
lámpara incandescente 50
láser 213
lentes de extracción 117, 133, 134
lentes de iones 117
levaduras 26
ley de Lambert-Beer 49, 65
límite de detección del método (LDM)
60, 61, 76, 77, 108, 109, 137, 168,
169, 176, 182
líneas Stokes y anti-Stokes 213
líquidos 10, 82, 126, 143, 149, 162, 213,
217
lixiviantes 219
llama de aire-acetileno 66
lodo arsenical 222
longitud del camino óptico 49
longitud de onda de la radiación 44, 212
longitud de onda resonante 65
longitud de paso óptico 65
luz dispersada 213
luz incidente 49, 65, 213
luz visible 49, 159, 211

M

magnetita 218
marcasita 22
materia condensada 216, 217
material de referencia 61, 76, 101, 103,

105, 108, 123, 136, 169, 206
materiales refractarios 80
materia orgánica 27, 31, 32, 67, 80, 87,
141, 217
matrices 15, 17, 35, 79, 119, 121, 139,
141, 142, 147, 153, 161
máximo de absorbancia 45
merluza 25
metabolito 25
metales pesados 113
metaloide 22, 32, 37, 101, 139, 145,
147, 149
metalotioneínas 27
meteorización 19
methanobacterium 26
metilación 20, 23, 25, 26, 27, 142, 144
método de Gutzeit 52
métodos espectrofotométricos UV-Vis
4, 16, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57,
59, 61, 63,
mezclas complejas 213, 214
mezclas complejas heterogéneas 214
 $Mg_3(AsO_4)_2 \cdot 8H_2O$ 23
mica 218, 219
microanálisis 214
micro-columnas 13, 225, 227
microscopía electrónica 157, 211, 221
microscopio 30, 214, 224
migración 186
mineralización 5, 67
minería 13, 19, 22, 216, 218, 222, 225
minería del oro 13, 216, 218
MMA(V) 19, 23, 26, 27
 $(Mn, Mg)_4Al(AsO_4)(OH)_8$ 23
modelo del oscilador armónico 213
modificador 88, 90
modos normales de vibración 212
modo vibracional asimétrico 224
modo vibracional simétrico 224
modulación 185, 186, 187, 188
molécula diatómica 213
moléculas diatómicas homonucleares
213, 214
molibdato 52
momento dipolar 212, 214
monocromador 50, 51, 70
monoelemental 189
monometilarsonato 19, 23

movilidad 15, 20, 22, 27, 139, 140, 216,
221, 223
multiplicador de electrones 118

N

$NaNO_3$ 220
 $NaOCl$ 52
nebulizador 101, 114, 127, 148, 152
 $NiAs$ 23
niccolita 23
 $(Ni, Co)_3(AsO_4)_2 \cdot 8H_2O$ 23
 $NiFe_2O_4$ 220
niveles atómicos 214
núcleos 15, 211, 213
número de coordinación 215

O

óptica invertida 51
orbitales 44
ordenamiento de corto alcance 216
organoarsenicales 26, 145
organometaloides naturales 145
orina 24, 25, 26, 27, 150
oropimente 23
oxianiones 20, 22, 27, 214
oxidantes 21, 22, 52, 216
óxido de trimetilarsina 23, 25, 150
oxihidróxidos de hierro 22, 223

P

pares de electrones no compartidos 45
penicillium 26
pescadilla 25
pescados 25
pescados blancos 25
pesticidas 19, 22, 26, 33
piridina 53, 54, 57
pirita 22, 218, 219
pirolíticas 81
pirolítico 81, 85
pirrotita 218, 219
plasmas 97, 111, 115, 138
plataforma 35, 81, 86, 88
plataforma L'vov 81
polarizabilidad 214
polímeros 146, 147, 213, 217
polvos 101, 143, 163, 212, 213, 217

Portugal 15, 189, 229
 potencial de movilidad 216, 221
 potencial en escalón 188
 preconcentración 12, 145, 146, 148,
 162, 163, 188
 preservación de muestras 3, 29, 30, 31,
 189
 preservante de madera 25
 procesamiento hidrometalúrgico 216
 proceso de combustión 67
 proceso de intercambio aniónico 225
 productos de corrosión 214
 proteínas 27, 146
 pseudomonas 26

R

radiación electromagnética 43, 44, 50,
 94, 101, 211, 212
 radiación infrarroja 211, 212, 213
 radiofrecuencia 44, 66, 98, 115, 117,
 126
 raíces 27, 176
 ranura de entrada 50
 ranura de salida 50, 51
 realgar 23
 rechazos 216
 red de difracción 50, 51
 reducción biológica 22
 refractariedad 218
 región iberoamericana 216
 registros 60, 75, 92, 107, 204
 reglas de selección 49, 94, 214
 relaves 13, 214, 216, 218, 220, 223, 227
 réplicas analíticas 123
 residuos industriales 214
 resinas de intercambio aniónico 225
 resonancia magnética nuclear 44
 resortes 213
 resultado análisis de arsénico 60, 76
 retrodifracción 215
 rocas 22, 23, 33, 34, 160, 176, 212, 214
 rotaciones 44, 211
 ruido 36, 68, 83, 84, 152, 180, 215

S

sangre 27
 selectividad atómica 216

semisólidos 213
 señal de fondo 82, 84, 215
 separación de arsénico 146, 239
 siderita 23, 218, 219
 sílice 146, 148, 218, 227
 simetría 212, 213
 sincrotrón 155, 215, 216
 sistemas aromáticos multicíclicos 46
 sistema de inyección en flujo (fias) 5, 67
 sistemas acoplados 145, 149
 skimmer 117, 119, 152
 SnCl_2 220
 soluciones acuosas 97, 99, 133, 145,
 147, 148, 213, 214
 staphylococcus 26
 streptococcus 26
 sulfato 198, 218, 221, 225, 226, 227
 sulfato de calcio 218, 221
 sulfuro de hidrogeno 53
 sulfuros 22, 218, 220
 sulfuros As_2S_3 22
 sulfuros AsS 22

T

tartrato de antimonilo 52
 técnica no destructiva 214
 técnicas acopladas 9, 16, 139, 140, 141,
 143, 144, 145, 147, 149, 151, 153
 técnicas Voltamétricas 185, 188, 189
 técnicas voltamétricas de impulsos 185
 tejidos 23, 24, 27, 145, 178, 182, 184
 tennantita 23
 teratogénico 25
 tiempo de vida de la gota 186, 187
 tiol 27, 226, 227
 TMA^+ 19, 23, 24, 26, 27
 TMAO(V) 19, 25
 torre de lavado de los gases de un
 tostador 222
 tostación 13, 218, 221
 tostador 221, 222
 toxicidad 19, 20, 23, 24, 25, 27, 67, 126,
 transformada de Fourier 215
 transiciones electrónicas 44, 45, 46
 transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 45
 transiciones $n \rightarrow \sigma^*$ 45
 transiciones $n \rightarrow \pi^*$ 46
 transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ 46, 47

transmisión 123, 127, 211, 215, 217
transmitancia 45, 48, 50, 65
transportador de glicerol 27
transportador de membrana del fósforo
27
transporte de masa 186
tratamiento de efluentes 216, 222, 223
trazadores internos 119, 121
trimetil-(carboximetil)arsonio 25
trióxido de arsénico 57, 166, 173, 179,
194, 197, 221
tubo de grafito 6, 80, 81, 82, 83, 85, 90
tubos de grafito 81, 82, 88
tungsteno 94

U

ultratrazas 17, 66
ultravioleta de vacío 45
uniones químicas 213, 217
UV lejano 45, 46, 101
UV-visible 44, 45, 56, 57, 213

V

valor máximo admisible 189
vía dérmica 27
vibraciones 211, 212, 213, 214
vibraciones inactivas 212
voltagramas 187, 188
voltimetría de onda cuadrada, SWV 187
voltimetría Diferencial de Impulsos,
DPV 187
voltimetría normal de impulsos, NPV
186

X

XANES (X-Ray Absorption Near Edge
Structure) 215

Y

yodato de potasio 52

Entre los contaminantes presentes en aguas subterráneas y superficiales utilizadas para consumo humano y producción de alimentos, el arsénico ocupa un lugar relevante con relación a los problemas de salud ocasionados con su ingesta.

La Red CYTED “*El arsénico en Iberoamérica. Distribución, metodologías analíticas y tecnologías económicas de remoción*” (IBEROARSEN), constituida en el año 2006, está integrada actualmente por 46 grupos de investigación de 17 países Iberoamericanos, y su principal objetivo es aumentar el conocimiento, el intercambio de información y la formación de recursos humanos en Iberoamérica en tres aspectos principales: a) distribución geográfica y geológica del arsénico en Iberoamérica; b) metodologías analíticas para determinación de arsénico a nivel trazas; c) tecnologías de remoción económicas de arsénico.

Una de las principales actividades de IBEROARSEN es la publicación de trabajos científicos relacionados con los tres aspectos mencionados. Luego de la publicación el año 2008 del primero de ellos, “Distribución del arsénico en las regiones Ibérica e Iberoamericana”, tenemos el gusto de presentar el segundo, “Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos”, que describe varias de las técnicas existentes para el análisis de arsénico, de distinta complejidad y niveles de detección variables. La mayoría de los capítulos cuenta también con un procedimiento normalizado de operación que facilita la aplicación de la metodología en cada caso. El presente volumen contiene además una breve reseña de las formas arsenicales más comunes en agua y suelos (Capítulo 1), y una detallada descripción sobre el tratamiento de las muestras antes de su análisis (Capítulo 2).

Lo invitamos a conocer IBEROARSEN ingresando a:
<http://www.cnea.gov.ar/xxi/ambiental/iberoarsen/>

Los editores.

IBEROARSEN

METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN Y ESPECIACIÓN DE ARSÉNICO EN AGUAS Y SUELOS

ISBN: 978-84-96023-71-0

EDITORES:

M.I. LITTER, M.A. ARMIENTA, S.S. FARÍAS